

**IMMUNGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN
BEI DER SKLERODERMIE**

BEATE MEINHOLD

1985

*Des
München*

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Heinz Spiess

IMMUNGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN BEI DER SKLERODERMIE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Beate Meinhold

aus

München

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. med. Albert
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Spiess
Dekan : Prof. Dr. med. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.12.1985

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	EINLEITUNG	1
II.	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	2
	A. Die Sklerodermie	2
	1. Zusammenfassende Definition	2
	2. Pathogenese	3
	3. Klassifikation	4
	4. Klinische Kriterien	6
	5. Verlauf, Aktivität und Therapie	7
	6. Prognose	8
	7. Immunologische Parameter	9
	B. Das HLA- System	11
	1. Allgemeine Vorbemerkung	11
	2. Funktion des MHC	17
	3. Klinische Relevanz des MHC	18
III.	MATERIAL UND METHODEN	22
	1. Krankenkollektiv	22
	2. HLA-Typisierung	23
	3. Bf-Testung	24
	4. Statistische Anmerkung	26
	a) Bf Genfrequenzzählung	26
	b) Haplotypfrequenzzählung	26
	c) χ^2 Test, p-Wert, relatives Risiko	27
IV.	ERGEBNISDARSTELLUNG	30
	1. Aufstellung der Bf Phänotypen nach der Hardy-Weinberg Verteilung	30
	2. Zählung der Bf Haplotypen zur Ermittlung der Häufigkeiten der einzelnen Bf-Allele	30

	Seite
3. Vergleich der Bf-Genfrequenzen in den Untergruppen der Sklerodermie	31
4. HLA-B und DR Genfrequenzzählung	31
5. HLA-Bf Haplotypkombinationen in der Gesamtgruppe und in einzelnen Untergruppen	32
6. HLA-B-Bf Haplotypfrequenzen	35
7. Analyse einer Drei-Punkt Assoziation an HLA-B-Bf-DR Haplotypen	35
8. Versuch einer Orientierung über die primäre Krankheitsassoziation	36
V. DISKUSSION	38
VI. ZUSAMMENFASSUNG	44
VII. TABELLEN	47
VIII. LITERATURVERZEICHNIS	65

I. EINLEITUNG

Die Sklerodermie ist eine durch Kollagenvermehrung ausgezeichnete, über Ödem und Verhärtung zur Atrophie führende Bindegewbserkrankung weitgehend ungeklärter Genese. Sie wird zusammen mit anderen Erkrankungen wie beispielsweise der Periarteriitis nodosa und dem systemischen Lupus erythematodes zum Formenkreis der immunpathologischen Systemerkrankungen gezählt. Aufgrund einiger Beobachtungen über familiäre Erkrankungen bei der Sklerodermie ohne den Nachweis eines eindeutigen Erbganges kam die Frage nach einer möglichen genetischen Disposition auf.(46,94,100).

Dazu interessierte unter anderem, ob eine Assoziation der Leukozytenantigene zu dieser Erkrankung nachzuweisen ist, wie dies auch bei anderen immunpathologisch bedingten Krankheiten gefunden werden konnte.

Mit dieser Fragestellung beschäftigte sich bereits eine vorausgehende Dissertation. Auf dieser Arbeit aufbauend und motiviert durch die Überlegung, daß möglicherweise eng mit dem HLA- Komplex gekoppelte Komplementgene ebenfalls am Prozeß der Krankheitsempfänglichkeit beteiligt sind, soll die Untersuchung des Bf Systems bei Sklerodermiepatienten Thema dieser Dissertation sein.

Korrelationen zu den selteneren C2, C4 und Bf Allelen konnten bereits für einige Erkrankungen, die primär mit dem HLA- DR Genort assoziiert sind, wie beispielsweise die Multiple Sklerose(88), die idiopathisch membranöse Nephropathie(34) und der insulinpflichtige Diabetes mellitus(59,60,67), beobachtet werden.

II. THEORETISCHE GRUNDLAGEN

A. DIE SKLERODERMIE

I. Zusammenfassende Definition

Die Reihe der zahlreichen Publikationen über die Sklerodermie reicht zurück bis ins 7. Jahrhundert, wo diese Krankheit erstmals ausführlich beschrieben wurde(13). Sie wird zusammen mit anderen Erkrankungen wie z.B. Dermatomyositis, Polymyositis und rheumatischer Arthritis zum Formenkreis der Kollagenosen gezählt. Der Name Sklerodermie bezeichnet die für diese Erkrankung charakteristische Hautverhärtung, die als Folge vaskulärer, fibröser und entzündlicher Veränderungen der Haut aufgefaßt werden kann(106). Die Ursache dieser Störungen ist bis heute ungeklärt, als ätiologische Faktoren werden Traumen, Infektionen, Autoimmunphänomene, Chromosomenaberrationen, toxische Substanzen und Störungen des Kollagenstoffwechsels im Korium oder subkutanen Bindegewebe diskutiert, es ergab sich jedoch noch kein überzeugender Anhalt für einen dieser Punkte(13).

Hinsichtlich der klinischen Erscheinungsform, dem Verlauf, der Prognose und der Therapie kann man die Sklerodermie in zwei voneinander verschiedene Formen unterteilen: die progressive systemische Sklerodermie (PSS) und die im Wesentlichen auf das Hautorgan beschränkte zirkumskripte Sklerodermie (ZS). Während sich die PSS in unterschiedlichen Schweregraden auch auf das Gefäß- und Bindegewebssystem der inneren Organe ausdehnt, wobei häufig der Gastrointestinaltrakt, die Lungen, die Muskulatur, die Nieren, das Herz und seltener auch das Nervensystem betroffen sind, zeichnet sich die prognostisch günstigere ZS in ihren verschiedenen Ausprägungsformen bisherigen Annahmen zufolge durch den alleinigen Hautbefall aus. Allerdings wurde in letzter Zeit häufiger auch über Organmanifestationen bei der ZS berichtet, die zu 80% mit deutlichen Entzündungsreaktionen im Blut und positiven Immunphänomenen korrelierten (71). So gesehen muß in einigen Fällen auch bei der ZS mit einem Organbefall gerechnet werden, jedoch ist die Prognose dennoch als günstigster anzusehen.

Die Sklerodermie ist insgesamt gesehen eher eine seltene Erkrankung mit 2,7- 12 Neuerkrankungen pro Million jährlich(35). Das Manifestationsalter der Sklerodermie erstreckt sich von Kindern bis zu älteren Menschen, wo-

bei der Gipfel zwischen 30 und 50 Jahren liegt. Frauen sind dabei wesentlich häufiger betroffen als Männer (Verhältnis Frauen : Männer = 3:1), lediglich bei der prognostisch ungünstigeren stammbetonten Sklerodermie ist das Geschlechtsverhältnis ausgewogen(13,51). Positive Immunphänomene treten den verschiedenen Autoren zufolge bei 20 - 90 % der Erkrankten auf. Die 5-Jahres Überlebensrate, gemittelt über alle Erkrankungstypen schwankt in der Literatur zwischen 40 und 70 %.

2. Pathogenese

Die Pathogenese der Sklerodermie ist unklar, jedoch scheinen initiale Gefäßveränderungen und Störungen des Kollagenstoffwechsels in der Grenzschicht von subkutanem Fettgewebe und tiefem Korium eine wichtige Rolle zu spielen(68,72,82,106). Generell lassen sich an der Haut drei Stadien der Erkrankung unterteilen:

- Ödem
- Induration
- Atrophie

Primär läßt sich eine nicht entzündliche Schädigung und Permeabilitätssteigerung des Endothels im peripheren Gefäßsystem nachweisen, verbunden mit einer fibro- muskulären Infiltration der Intima der kleinen Gefäße.(1,55) Die Zahl der Kapillaren ist insgesamt vermindert, das Lumen eingeeengt, daraus resultiert eine verlangsamte und verminderte Zirkulation mit Sludge-Phänomenen und Thrombenbildung (105). Die Gefäßpermeabilität nimmt weiter zu und es kommt schließlich aufgrund des erhöhten hydrostatischen Drucks zur Ödembildung. Nun treten zusätzlich Entzündungsreaktionen auf, das Gewebe wird zunehmend fibrotisch umgebaut, was letztlich zur Atrophie führt. Gleichzeitig zeigen sich pathologische Veränderungen im Kollagenstoffwechsel. Die Kollagenfibrillen sind vermehrt, teilweise verdünnt und unreif, was auf eine erhöhte Fibroblastenaktivität zurückgeführt werden kann mit einer verstärkten Synthese bestimmter Aminosäuren, die zur Kollagenherstellung benötigt werden(1,11,13,29,52,64,96). Auch wurden Veränderungen in der Grundsubstanz nachgewiesen, was zu einer Störung im Kollagenmetabolismus mit erhöhter Syntheseaktivität führt(48,92).

Möglicherweise sind auch Störungen der immunkompetenten Zellen von entscheidender pathogenetischer Bedeutung. Es wurde über eine Beeinflussung des Kollagenstoffwechsels durch T- Lymphozyten spekuliert(63,93). Zahlreiche Studien über Immunphänomene als pathogenetisch bedeutende Faktoren bei der Sklerodermie erwiesen sich jedoch als nicht überzeugend.

Die oben beschriebenen fibromuskulären Veränderungen können sich auch am Gefäßbindegewebe der inneren Organe manifestieren, was dann zu den typischen Funktionsstörungen der einzelnen Organe führt.

3. Klassifikation

Hinsichtlich des klinischen Erscheinungsbildes, dem Verlauf, der Prognose und der Therapie wird die Sklerodermie in zwei voneinander verschiedene Großgruppen unterteilt, die PSS und die ZS. Die meisten Autoren unterscheiden bei der PSS zwei Untergruppen: eine vaskulär fibrotische Form oder Akrosklerodermie und eine entzündlich fibrotische Form oder diffuse Sklerodermie(52,55,106). Die Zuordnung der Patienten zu den einzelnen Untergruppen erfolgte in dieser Arbeit gemäß der Einteilung der Arbeitsgruppe Sklerodermie in der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), die die PSS in drei Typen unterteilt:

- Typ 1 Akrosklerodermie
- Typ 2 Proximal aufsteigende Sklerodermie
- Typ 3 Stammsklerodermie

Typ 1 ist charakterisiert durch fibrovaskuläre Störungen des Gefäßbindegewebes mit funktionellen Störungen der Vasomotorik, Raynaud- Symptomatik, Hautverhärtung, Fingerulzationen und Verkalkungen, sowie Teleangiektasien in der Haut. Die fibrotischen Erscheinungen treten vor allem im Gesicht und an den distalen Extremitäten zutage, wobei das Handgelenk typischerweise nicht überschritten wird.

Typ 2 unterscheidet sich von Typ 1 lediglich durch das Übergreifen der Fibrosierungen an den Extremitäten von distal nach proximal auf die Arme und den Stamm.

Bei Typ 3 fehlt zunächst die für die Akrosklerodermie typische periphere Raynaud- Symptomatik, sie kann sich jedoch in einem späteren Stadium einstellen. Die fibrotischen Veränderungen befallen zunächst den Stamm und können sich dann nach distal auf die Extremitäten ausdehnen.

Zusätzlich wird jeder Erkrankungstyp anhand von Entzündungsparametern in eine entzündliche und nicht entzündliche Form unterteilt. Dabei werden als Entzündungsparameter berücksichtigt:

- BKS > 40 in der zweiten Stunde
- Leukozyten $> 12600/\text{mm}^3$
- Hypergammaglobulinämie $> 1,6\text{g/dl}$
- ANA Titer $> 1:40$
- positive Rheumaserologie (Latex- Test, Waaler- Rose Test)

Fallen mehr als drei dieser Parameter positiv aus, so spricht man von einem entzündlichen Verlauf, dem der Buchstabe a zugeordnet wird, andernfalls handelt es sich um eine nicht entzündliche Verlaufsform, die mit dem Buchstaben b bezeichnet wird.

Im allgemeinen verläuft Typ 1 ohne Entzündung, Typ 2 überwiegend entzündlich, während bei Typ 3 stets Entzündungszeichen nachgewiesen werden. Die zirkumskripte Sklerodermie unterscheidet sich von der PSS durch eine überwiegende Beschränkung der Fibrosierung auf das Hautorgan, allerdings können auch selten interne Manifestationen auftreten (in 27%), die vor allem mit positiven Entzündungsparametern korrelieren, was erst kürzlich in einer Arbeit untersucht wurde(71). Es findet sich keine Raynaud-Symptomatik. Die ZS kann ebenfalls entzündlich oder nicht entzündlich verlaufen. Das klinische Spektrum beinhaltet eine disseminierte, eine lineäre und eine generalisierte Form, wobei in dieser Arbeit nur die disseminierte Erscheinungsform berücksichtigt wurde.

Die disseminierte ZS weist an mehreren Körperstellen einen flächenhaften, umschriebenen Hautbefall auf, die lineäre Form tritt bandförmig oder halbseitig auf, greift oft auf die darunterliegende Subkutis und das Periost über, was zu beträchtlichen Kontrakturen und Asymetrien führen kann, während die generalisierte Form mit einem fast völligen Befall des Integuments einhergeht.

Die einzelnen Formen und Typen der Sklerodermie gehen im Allgemeinen nicht ineinander über, es wurden jedoch Fälle beschrieben, die charakteristische Merkmale beider Großgruppen enthielten(104).

4. Klinische Kriterien und Differentialdiagnose

Die Beurteilung und Diagnosestellung der Sklerodermie erfolgt streng nach klinischen Kriterien. Ein wichtiger Gesichtspunkt für Typ 1 und 2 der PSS ist dabei der häufige Beginn mit peripherer Raynaud- Symptomatik. Diese kann dem weiteren Ausbruch der Erkrankung um Jahre vorausgehen. Insgesamt ist sie in über 90% der Fälle anzutreffen.

Das Hauptsymptom bildet jedoch die Hautsklerose, die sich zunächst in oft schmerzhafter Schwellung der Hautpartien äußert. Die Läsionen verhärten zunehmend, es können zusätzlich Hyper- und Depigmentierungen, Hyperkeratosen, Teleangiektasien, Kalkdepots, schlecht heilende Ulzerationen, Sklerodaktylie und Akroosteolyse an den betroffenen Stellen auftreten(35,52,92).

Dabei ist für die Akrosklerodermie die distale Begrenzung der Sklerosierung bis zum Handgelenk erforderlich, während bei Typ 2 die Manifestationen nach proximal auf die Arme und den Stamm übergreifen. Für die Stammsklerodermie ist der primäre Befall des Rumpfes mit zunächst fehlender Raynaud- Symptomatik charakteristisch.

Ein weiterer, vor allem für die Prognose entscheidender Gesichtspunkt ist die Beteiligung der inneren Organe. Dabei werden der Häufigkeit nach folgende Organe befallen(13,52,107):

- Ösophagus (Dysphagie, epigastrische Beschwerden)
- Lunge (Dyspnoe, Fibrose, respiratorische Insuffizienz)
- Herz (Herzinsuffizienz, Arrhythmien)
- Gastrointestinaltrakt (Malabsorptionssyndrom)
- Niere (renale, maligne Hypertonie, Niereninsuffizienz)

Die zirkumskripte Sklerodermie äußert sich je nach ihrer Erscheinungsform in disseminierten, flächenhaft umschriebenen, generalisierten, fast das ganze Integument befallenden, oder einseitig streifenförmigen derben, plattenartigen Indurationen der Haut(52).

Die lineäre Sklerodermie greift oft auf die Subkutis und das Periost über, während die übrigen Formen auf die Dermis beschränkt bleiben. Die Läsionen weisen oft einen peripheren lilac Ring auf, sie neigen in gewissem Umfang zur spontanen Rückbildung. Selten können auch interne Manifestationen wie bei der PSS auftreten, Raynaud- Symptomatik wurde jedoch nicht beobachtet(71).

5.Verlauf, Aktivität und Therapie

Der Verlauf der Sklerodermie ist oft unberechenbar, er wird durch wechselnde Krankheitsaktivitäten bestimmt. Als Aktivitätszeichen werden rein klinische Parameter gewertet, wie:

- Zunahme der Hautsklerose
- Verschlechterung der vaskulären und viszeralen Symptomatik
- Schmerzhafter Bewegungseinschränkung der Gelenke

Der Krankheitsverlauf scheint auch von äußeren Einflüssen abhängig zu sein, so bessert sich z.B. die Situation meist durch Wärmeeinfluß im Sommer, während sie sich bei kalter Witterung im Winter oft verschlechtert(96).Zusätzlich findet man im aktiven Stadium der Erkrankung im Blut oft eindeutig positive Entzündungsparameter und pathologisch immunologische Veränderungen, die jedoch nicht mit dem Aktivitätsgrad oder der Schwere der Erkrankung korrelieren(72).

Im Allgemeinen nimmt die Akrosklerodermie einen relativ günstigen chronischen Verlauf der wenig Aktivität zeigt. Die Stammsklerodermie kann oft rasch progredient in einem akuten Verlauf innerhalb kurzer Zeit enden. Die subakute Verlaufsvariante ist durch langsame Progredienz mit wechselnden Aktivitätsgraden gekennzeichnet (107).

Die Therapie der Sklerodermie gestaltet sich äußerst schwierig, da ein kausales Vorgehen aufgrund der unklaren Ätiopathogenese nicht möglich ist. Es wurden bereits zahlreiche Substanzen mit wechselndem Erfolg erprobt, die den Kollagenstoffwechsel und die vaskulären Veränderungen beeinflussen sollen. Häufig finden D- Penicillamin, Immunsuppressiva, Vasodilantien und Reserpin Anwendung, was

jedoch auch zu erheblichen Nebenwirkungen führt. In der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung in München wurde eine neue Therapie mit Spironolakton, Aldosteron und Ka- Mg- Hydrogenaspartat durchgeführt, die sich als relativ nebenwirkungsarm erwies, und zur Besserung der Hautsklerose beitrug.

Wichtig ist die symptomatische Therapie bei funktionellen Beschwerden der inneren Organe, generell empfiehlt sich ein Schutz vor Kälteeinwirkung.

6. Prognose

Die Prognose der Sklerodermie hängt von einigen wichtigen Faktoren ab und ist für die einzelnen Erkrankungsformen recht unterschiedlich. Je jünger ein Patient bei Erkrankungsbeginn ist, desto besser gestaltet sich seine Prognose bezüglich der Überlebensrate. Bei Männern verläuft die Krankheit im Allgemeinen schwerer als bei Frauen. Die Organbeteiligung ist ein entscheidender Faktor für die Prognose der Erkrankung, ein Befall der Niere oder des Herzens führt im Besonderen oft innerhalb kurzer Zeit zu unbeherrschbaren Komplikationen mit Nierenversagen bzw. Herzversagen.

Nach Winkelmann(106) lassen sich drei Stadien der Krankheit unterscheiden:

- Stadium I (Haut, Ösophagus, Muskel- und Skelettsystem,Calcinosis)
- Stadium II (Lunge, Gastrointestinaltrakt)
- Stadium III (Niere, Herz)

Dabei ist für Stadium I eine günstige, für Stadium III eine infauste Prognose gestellt.

Bei den einzelnen Sklerodermietypen weist die Akrosklerodermie im Allgemeinen eine günstige Prognose auf, wobei es häufig zu zeitweiligem Krankheitsstillstand kommen kann. Die Stammsklerodermie dagegen zeigt oft einen sehr aggressiven Verlauf und hat aufgrund der häufigen Organbeteiligung eine ausgesprochen schlechte Prognose. Bei der ZS wurde eine hohe spontane Besserungsrate beobachtet, es kann sogar zur vollständigen Rückbildung aller Krankheitserschei-

nungen kommen (26). Aufgrund der seltenen Organbeteiligung weist die ZS die günstigste Prognose auf.

7. Immunologische Parameter

Bei der Suche nach der Klärung der Pathogenese der Sklerodermie stieß man auch auf einige pathologische immunologische Phänomene in der humoralen und zellulären Immunabwehr. Man vermutete zunächst einen ähnlichen ursprünglichen Zusammenhang dieser Parameter mit der Erkrankung wie im Fall des Lupus erythematoses, was sich jedoch nicht bewahrheitete. Mehrere Arbeitsgruppen fanden im Serum von Sklerodermiepatienten verschiedene Arten von Antikörpern, z.B. Antikörper gegen die Zentromerregion des Chromosoms, Antikörper gegen nukleoläres Ribonukleoprotein, Antikörper gegen nukleäre Antigene (Antikörper gegen ENA) oder Antikörper gegen doppelsträngige DNA. Das Vorkommen dieser Antikörper ist jedoch nicht spezifisch für die Erkrankung, auch berichten die einzelnen Autoren über extrem unterschiedliche Resultate: von 0 - 96% (15,39,62, 69,76). Durchschnittlich finden sich antinukleäre Antikörper bei der PSS in einer prozentualen Häufigkeit von 60 - 90%, bei der ZS sind sie in 20 - 47% positiv. Es handelt sich dabei um Antikörper vom IgG, IgM und seltener vom IgA - Typ, sie zeigen in der Immunfluoreszenz ein gesprenkeltes, ein nukleoläres oder seltener ein homogenes Muster. Es wird angenommen, daß diese immunologischen Parameter keine primäre Rolle in der Ätiopathogenese der Sklerodermie spielen, ihre genaue Bedeutung ist jedoch noch unbekannt (15,76). Einige Autoren fanden einen Zusammenhang zwischen den einzelnen Mustern in der Immunfluoreszenz und verschiedenen klinischen Gesichtspunkten der Sklerodermie (62,69), beispielsweise:

gesprenkeltes Muster - günstiger Verlauf ohne Nierenbeteiligung

nukleoläres Muster - diffuser Hautbefall

thready Muster - pulmonale Beteiligung

Es besteht jedoch keine Korrelation zwischen der Titerhöhe der antinukleären Antikörper und der Krankheitsaktivität oder der Schwere der Erkrankung. Über die mögliche Funktion der antinukleären Antikörper

in der Sklerodermie konnte bisher noch keine fundierte Aussage gemacht werden. Ebenso herrscht Unklarheit über die spezifische und pathogenetische Bedeutung der zirkulierenden Immunkomplexe in der Sklerodermie. Bei einigen Patienten fanden sich Immunkomplexablagerungen perivaskulär und in der Basalmembran (70,95,98). Ihre deutliche Erhöhung im ödematösen Stadium könnte auf eine Beteiligung bei der Krankheitsauslösung hinweisen. Ebenso könnten hohe Konzentrationen zu pathogenetisch wirksamen Mechanismen an der Niere führen, wie man sie beim Lupus erythematodes beobachtet. Zur genauen Festlegung ihrer pathogenetischen Rolle bedarf es jedoch noch weiterer Untersuchungen.

Neben den oben beschriebenen Störungen der humoralen Immunabwehr fanden sich bei Sklerodermiepatienten auch Veränderungen im zellulären Immunsystem. Die Zahl der T - Lymphozyten ist vermindert bei normaler B - Lymphozytenzahl, es besteht jedoch kein Zusammenhang zwischen dieser Erniedrigung und der klinischen Aktivität der Krankheit oder dem Ausmaß der viszeralen Beteiligung, wie vermutet. Es wurde auch eine verminderte T - Suppressor- Aktivität und eine erhöhte Funktion der T - Helferzellen beobachtet(25,63), was die Regulation der zellvermittelten Immunität beeinflusst, und somit eventuell für bestimmte Krankheitserscheinungen bei der Sklerodermie verantwortlich gemacht werden könnte. Der genaue Mechanismus dieser Vorgänge ist jedoch noch unklar.

Weiterhin wird die verzögerte Induktion der zellulären Immunantwort nach Sensibilisierung mit Dinitrochlorbenzol beschrieben, sowie eine herabgesetzte Reaktion auf Mitogene (56). Ebenso wurde eine Erniedrigung einer neuen Subpopulation der Lymphozyten bei der Sklerodermie entdeckt - L - Lymphozyten-, mit einer hohen Affinität ihres Fc - Rezeptors für IgG, was als eine weitere Manifestation der gestörten zellvermittelten Immunabwehr in der Sklerodermie angesehen werden könnte(53). Über die einzelnen immunologisch pathologischen Phänomene in der Sklerodermie wird zur Zeit intensiv geforscht, ihre mögliche Bedeutung für die Pathogenese der Erkrankung bleibt jedoch weiterhin zu klären.

B. DAS HLA - SYSTEM

1. Allgemeine Vorbemerkung

Analog dem H2 - System bei der Maus konnte auch für den Menschen ein Haupthistokompatibilitätssystem definiert werden, das aufgrund seiner Bedeutung für die Gewebeverträglichkeit körperfremder Transplantate und seiner Rolle im Ablauf der Immunantwort in zunehmendem Maße in den Vordergrund wissenschaftlichen Interesses rückte.

Der Haupthistokompatibilitätskomplex (abgekürzt MHC für Major Histocompatibility Complex) beinhaltet eine Reihe eng gekoppelter Gene unterschiedlicher Funktion und Bedeutung, die alle auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr. 6 lokalisiert sind und jeweils multiple Allele aufweisen (3,8,65,99). Die wichtigsten Gene bzw. Genprodukte lassen sich folgendermaßen klassifizieren:

- die drei klassischen, serologisch definierten HLA - Antigene A, B, C, die auf allen kernhaltigen Zellen und Thrombozyten exprimiert sind, und aufgrund ihrer Bedeutung bei der Transplantatabstoßung auch Transplantationsantigene genannt werden. Sie wurden zuerst entdeckt.
- die HLA- D Antigene, die mit der Technik der gemischten Lymphozytenkultur bestimmt werden.
- die B - Zell spezifischen HLA - DR Antigene, die mit Hilfe von Antisera auf B - Zellen und Makrophagen nachgewiesen werden können, und hochgradig mit bestimmten HLA -D Antigenen assoziiert sind (DR = D related)
- die Komplementkomponenten C2, C4 Faktor B (Bf), die in der Immunabwehr eine Rolle spielen
- die Markergene für die Enzyme Glyoxalase(GLO) und Phosphoglucomutase(PGM3)
- die Immunantwortgene
- die Krankheitsempfänglichkeitsgene

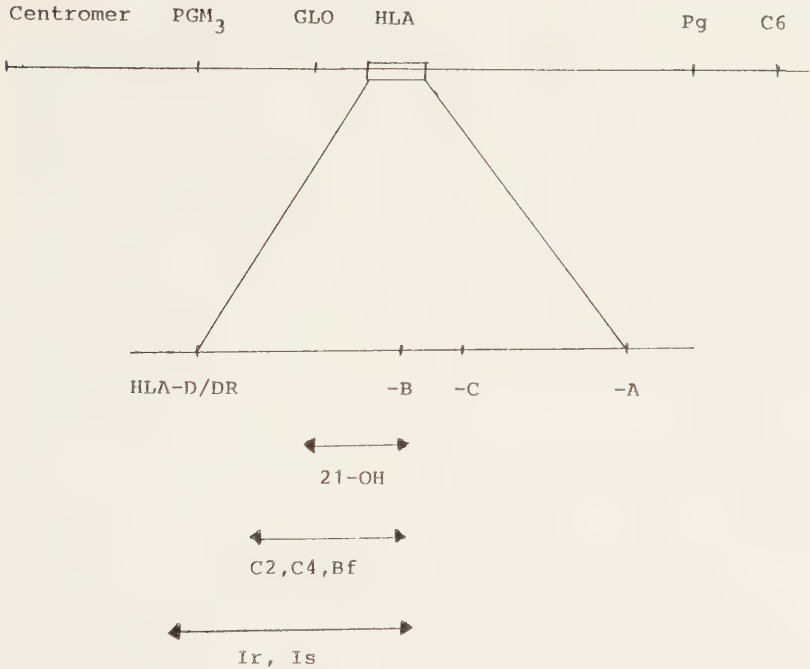
In den letzten Jahren war vor allem die Assoziation bestimmter HLA- Antigene mit einzelnen Krankheiten, sowie die mögliche Existenz sogenannter Krankheitsempfänglichkeitsgene in enger Verbindung mit dem MHC Gegenstand intensivster Forschung. Die Erkenntnisse diesbezüglich basierten nicht zuletzt auf wesentlichen Voruntersuchungen am H2- System bei der

Maus, das aufgrund der hochgradigen Analogie mit den MHC anderer Spezies eine wichtige Rolle in der immungenetischen Forschung einnimmt.

Seit der Entdeckung der ersten HLA Antigene Ende der fünfziger Jahre durch Dausset und Mitarbeiter (32) sind bisher gemäß der Übereinkunft auf dem 8th International Histocompatibility Workshop folgende HLA Spezifitäten offiziell anerkannt:

HLA-A Locus	HLA-B Locus	HLA-C Locus	HLA-DR Locus
A1	B5	Cw1	DR1
A2	B7	Cw2	DR2
A3	B8	Cw3	DR3
A9	B12	Cw4	DR4
A10	B13	Cw5	DR5
A11	B14	Cw6	DRw6
Aw19 > A9	B15	Cw7	DR7
Aw23	Bw16	Cw8	DRw8
Aw24	B17		DRw9
A25 > A10	B18		DRw10
A26	Bw21		
A28	Bw22		
A29	B27		
Aw30	Bw35		
Aw31	B37		
Aw32	Bw38		
Aw33	Bw39 > Bw16		
Aw34	B40		
Aw36	Bw41		
	Bw42		
	Bw43		
	Bw44 > B12		
	Bw45		
	Bw46		
	Bw47		
	Bw48		
	Bw49 > Bw21		
	Bw50		
	Bw51 > B5		
	Bw52		
	Bw53		
	Bw54 > Bw22		
	Bw55		
	Bw56		
	Bw57 > B17		
	Bw58		
	Bw60 > B40		
	Bw61 > B15		
	Bw62		
	Bw63		
	Bw4		
	Bw6		

Mit Hilfe der bekannten Markergene für GLO und PGM₃ sowie anhand von Rekombinationsstudien in Familienanalysen konnten die Positionen der einzelnen Gene des MHC auf dem Chromosom Nr.6 wie folgt ermittelt werden (108):



Ir = Gene für Immunantwort

GLO = Glyoxalase I

Is = Gene für Immunsuppression

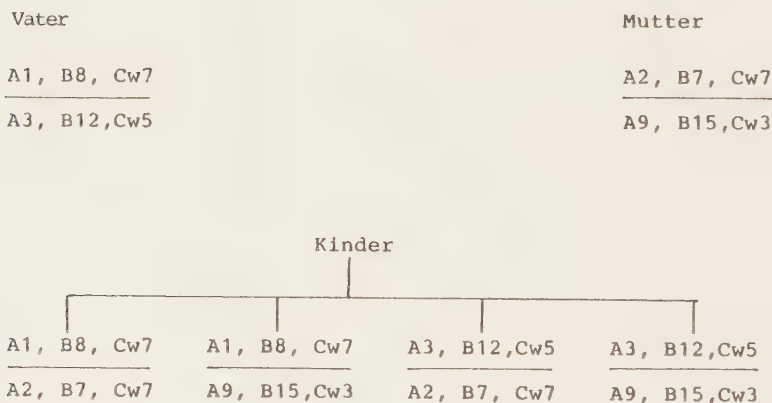
PGM₃ = Phosphoglucomutase 3

21-OH = 21-Hydroxylase

Pg = Pepsinogen

Die Plazierung der IS, IR und der Krankheitsempfänglichkeitsgene zwischen dem B und D Genlocus kann bisher nur vermutet werden, zur Verifizierung bedarf es weiterer biochemischer, strukturanalytischer Untersuchungen.

Die HLA Antigene A,B,C,D,DR werden von fünf eng gekoppelten, aber durch Rekombination trennbaren Genorten auf Chromosom Nr.6 kodiert, wobei jeder Locus multiple Allele aufweist. Aufgrund der Diploidie des menschlichen Chromosomensatzes trägt jedes Individuum somit insgesamt 10 (2x5) HLA Antigene. Anhand von Familienuntersuchungen konnte ein kodominanter Vererbungsmodus nachgewiesen werden. Infolge der engen Kopplung der Genorte werden die HLA Gene en bloc vererbt. Die so entstehende Vererbungseinheit mit der Information für je ein HLA -A,B,C, D,DR Antigen wird als Haplotyp bezeichnet und stellt den halben Genotyp dar. Jedes Individuum besitzt somit zwei Haplotypen, einen mütterlichen und einen väterlichen, was einem Genotypen entspricht. Nur selten tritt eine Rekombination durch crossing over der beiden Haplotypen auf. Anhand eines Beispiels sollen die Vererbungsvorgänge verdeutlicht werden:



Die Verteilung der HLA Antigene in der Bevölkerung kann anhand der Haplotyp-, der Genotyp-, oder der Phänotypfrequenzen gemessen werden, wobei ein Phänotyp die genetische Information der gekoppelten Genorte ohne Kenntnis der Haplotypzusammenstellungen beinhaltet.(z.B.HLA A1,3, B2,5, C3,7, DR4,5) Im Allgemeinen wird die Häufigkeitsverteilung der Gene in einer Population auf der Ebene der Haplotypfrequenzen dargestellt, da diese die Vererbungseinheit charakterisieren.

Aufgrund der multiplen Allelie der einzelnen Genorte ergibt sich theoretisch eine große Anzahl möglicher Haplotypkombinationen. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, treten die meisten Haplotypen nur mit geringer Frequenz auf. Einige Haplotypfrequenzen liegen jedoch deutlich höher als man sie aufgrund der Multiplikation der beteiligten Genfrequenzen erwarten würde, gemäß dem Gesetz der Kombinatorik für zwei durch Rekombination trennbare Genorte, das auch von anderen eng gekoppelten Systemen bekannt ist (MNSS, Rh).

$$f_{HI} = f_{g_1} \times f_{g_2}$$

Dieses Phänomen wird als Kopplungsungleichgewicht bezeichnet und ist von praktischer Bedeutung. (z.B. für die Paternitätsgutachten (74)) Als Ursachen für ein Kopplungsungleichgewicht werden zum einen Selektionsprozesse, zum anderen die Vermischung von Populationen mit durch Inzucht bedingten hohen Frequenzen verschiedener Haplotypen vermutet (2).

-lymphocytär definierte Antigene

Bei dem Versuch, die immunologisch bedingte Transplantatabstoßungsreaktion in vitro durch Stimulation der Lymphocytenkulturen von Spender und Empfänger nachzuvollziehen, ergab sich in 90% von HLA A,B,C identischen, nicht verwandten Personen eine positive Testreaktion. Bei Geschwisteruntersuchungen beobachtete man in 75% einen positiven Stimulationstest (2). Dies führte zu der Definition eines weiteren eng mit dem MHC gekoppelten HLA Genortes HLA-D, dessen Genprodukte für die Stimulation in der gemischten Lymphocytenkultur verantwortlich gemacht werden. Da dieses Untersuchungsverfahren recht aufwendig ist, suchte man nach Möglichkeiten, diese Antigene serologisch nachzuweisen. Aus analogen Studien bei der Maus fand man heraus, daß diese Antigene aus der immune response region des H2-Systems der Maus vornehmlich auf B-Lymphocyten und Makrophagen zu finden sind, nicht jedoch auf T-Lymphocyten und Thrombocyten. Die mit Hilfe eines B-Zell angereicherten Lymphocytotoxizitätstests analog dem Verfahren zur HLA- A, B,C Typisierung bestimmten Antigene werden mit DR (=D relatet) bezeichnet, um die enge Beziehung zum HLA-D Genort auszudrücken. Das Phänomen des Kopplungsungleichgewichts konnte speziell zwischen Anti-

genen der HLA-D/DR Region und dem HLA-B Locus beobachtet werden. Es wurde spekuliert, daß es sich bei den HLA-DR Antigenen um die sogenannten Immunantwortgene handeln könnte. Zur Klärung der genauen Beziehung der HLA-DR Antigene zum HLA-D Genort einerseits, und zu den Immunantwortgenen andererseits bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

- Komplementgene C2, C4 und Faktor Bf

Das Komplementsystem gehört zu den unspezifischen, humoralen Immunmechanismen und besteht aus einer Kette von mindestens 9 Serumproteinen (C1 - C9), die in einer festgelegten Reihenfolge reagieren. Die dabei entstehenden, zum Teil enzymatisch aktivierten Folgeprodukte führen letztlich zu einer Lyse der Zellmembran. Das Properdinsystem ist ebenfalls in der Lage, über einen alternativen Aktivierungsweg die Komplementkaskade zum Ablauf zu bringen (90). Dazu gehört das 1959 von Pillemer entdeckte Bf Protein, (nach der WHO Nomenklatur auf dem zweiten internationalen Immunologiekongreß 1974 Faktor B genannt) das als Proaktivator von C3 fungiert. Es wandert in der Gelelektrophorese mit der β -Bande und wird wegen seines hohen Glycingehaltes auch glycinreiches β -Glycoprotein (GBG) genannt. Es konnte 1971 von Goetze und Müller-Eberhard als C3 Proaktivator aus menschlichem Serum isoliert werden (44). Das Bf System wird von einem Genort kodiert und weist zwei häufige (Bf S und Bf F) und zwei seltene (Bf S1 und Bf F1) Allele auf(11). 1974 berichtete Allen über die enge Kopplung des Bf Polymorphismus mit dem HLA System, wobei ein Kopplungsungleichgewicht hauptsächlich für Merkmale des HLA-B Locus nachgewiesen werden konnte (9,45,87,81).

Kurze Zeit später fand man eine enge Assoziation der Komplementkomponenten C2 und C4 mit dem HLA System, für die übrigen Komplementkomponenten konnte keine diesbezügliche Beziehung hergestellt werden. Somit ergab sich nur für die Komponenten, die C3 Konvertasen im aktivierten Zustand sind (C2,C4,Bf) eine Kopplung mit dem HLA System, was für die Krankheitsassoziation mit HLA Antigenen von Bedeutung ist(16,31).

Anhand von Rekombinationsstudien in Familienanalysen kam man zu der Annahme, daß die Genorte für Bf, C2 und C4 zwischen HLA D/DR und HLA B liegen(2, 47,81,87,89,90,102), die genaue Position konnte jedoch nicht

bestimmt werden. Es zeigte sich, daß die Bf und C4 Kpmponenten bei Rekombinationen sowohl mit dem B- als auch mit dem D/DR Segment segregieren (23,62,87).

2. Funktion des MHC

Wie sich in den letzten Jahren in zunehmendem Maße herausstellte, sind die Produkte des MHC nicht nur für die Erkennung von körpereigenen und körperfremden Zellen verantwortlich, sondern kontrollieren und steuern darüber hinaus auch die Immunantwort, und sind vermutlich für die Krankheitsempfänglichkeit von Bedeutung. Diese Erkenntnisse beruhen zum größten Teil auf Ergebnissen bei der Maus und anderen Tierespezies. Aufgrund der hochgradigen Analogie der einzelnen MHC's erscheint es gerechtfertigt, die Befunde auf den Menschen zu übertragen (8).

Die Existenz sogenannter Immunantwortgene, die die Fähigkeit eines Individuums zur immunologischen Abwehrreaktion kodieren, konnte im H2-System der Maus experimentell nachgewiesen werden (Mc Dewitt et al. 1969, 1972). Analog dazu postulierte man für den Menschen das Vorkommen dieser Gene im MHC, die genaue Position konnte jedoch noch nicht gefunden werden, man vermutet sie in nächster Nähe des HLA-D/DR Genortes in enger Kopplung (3). Einige wichtige Befunde deuten auf die Existenz einer IR Region hin. So konnte nachgewiesen werden, daß die Produktion von IgE Antikörpern gegen bestimmte Pollenallergene in Familien mit Heuschnupfen mit dem HLA System gekoppelt ist, ohne daß die Assoziation zu einem bestimmten HLA Antigen beobachtet werden konnte. Ebenso wird beschrieben, daß die Neurodermitis mit HLA segregiert, ohne eine spezielle Assoziation mit HLA-A oder B aufzuweisen (4). Die Möglichkeit, daß verschiedene MHC gekoppelte Gene die Immunantwort kontrollieren, wie dies bei der Ratte gezeigt werden konnte, darf nicht außer Acht gelassen werden. Es erfordert weitere struktur- und familienanalytische Untersuchungen.

Die Immunantwort läuft einerseits über humorale, andererseits über zellvermittelte Abwehrmechanismen ab. Für beide Wege ist die Zusammenarbeit von Makrophagen, T- und B-Lymphocyten erforderlich, die

über eng mit dem HLA System gekoppelte Gene gesteuert werden (78). Die Kooperation von T- und B-Zellen im Rahmen der Immunantwort geschieht über die Abgabe von antigenspezifischen T-Zell Faktoren, die IA-Antigene (=DR Antigene) tragen, wobei diese Faktoren die Immunantwort entweder fördern (durch antigenspezifische Helfer-Faktoren) oder unterdrücken (durch antigenspezifische Suppressor-Faktoren) können (8). Die Position dieser die Immunantwort steuernden Gene wird per Analogieschluß in der HLA-D Region erwartet. Für die Zusammenarbeit zwischen T-Lymphocyten, B- Lymphocyten und Makrophagen ist die Übereinstimmung in mindestens einem HLA Antigen bei den Lymphocytenpopulationen notwendig (4).

Durch Experimente mit virusinfizierten Zellen an der Maus konnte nachgewiesen werden, daß die Fähigkeit zur Erkennung von "Selbst" bei zellvermittelter Zytotoxizität von Produkten des MHC abhängig ist(33). Nur bei Übereinstimmung der Effektorzelle (=T-Killerzelle) mit der Zielzelle (=virusinfizierte Zelle) in mindestens einem H-2K oder H-2D Antigen (entspricht den HLA- A,B,C Antigenen bei Menschen) erfolgte eine Zytolyse. Somit dienen die HLA- A,B,C Antigene als Zielstrukturen bei der "Selbst" Erkennung durch Zellen des Immunsystems(4). Dies bedeutet wiederum, daß mutierte Zellen, die diese Merkmale verloren haben, vom Abwehrsystem nicht zerstört werden können, was z.B. eine Ursache für die ungestörte Vermehrung von maligne transformierten Zellen sein könnte(4).

3. Klinische Relevanz des MHC

-HLA und Transplantation

Die Berücksichtigung des HLA Systems ist in Bezug auf die Verträglichkeit und Überlebensdauer von Organtransplantaten neben anderen Faktoren von großer klinischer Bedeutung. Van Rood konnte 1966 nachweisen, daß Transplantate von HLA identischen Geschwistern eine signifikant höhere Überlebensdauer aufweisen als solche von HLA nicht identischen Geschwistern (4). In weiteren Untersuchungen versuchte man nun, eine positive Korrelation aufzuzeigen zwischen dem Grad der HLA Kompatibilität und der Überlebensdauer der Transplantate

bei nicht verwandten Personen, was jedoch nicht eindeutig gelang. Einige Studien berichten über eine Abhängigkeit der Transplantat-Überlebenszeit vom Grad der HLA Kompatibilität (50,61), während andere Untersuchungen diesen Zusammenhang nicht nachvollziehen konnten. Eine Kompatibilität des HLA- DR Genortes stellte sich als vorrangig gegenüber den HLA- A, B, C Genorten heraus (77). Dies legt die Vermutung nahe, daß weitere, bisher noch unbekannte genetische Systeme für die Verträglichkeit von Transplantaten eine wichtige Rolle spielen, die möglicherweise eng mit dem HLA-D/DR Genortgekoppelt sind. Neben dem positiven Effekt von vorausgehenden Bluttransfusionen auf die Überlebensdauer von Transplantaten (die Ursache ist unklar, eventuell spielt die Induktion unspezifischer Suppressorzellen eine Rolle) konnte dagegen eine hyperakute Abstoßungsreaktion bei Anwesenheit von zytotoxischen Antikörpern im Serum von Empfängern gegen HLA Merkmale des Spenders nachgewiesen werden (4,108).

Knochenmarkstransplantationen verliefen bisher nur erfolgreich, wenn HLA identisches Material von Geschwistern übertragen wurde, da aufgrund der hier auftretenden Gefahr der graft versus host Reaktion eine optimale Kompatibilität postuliert werden muß (4).

Für die Gebiete der Herz- Leber- Lungen- und Pankreastransplantation, die sich noch im Anfangsstadium befinden, spielt die Spenderauswahl nach HLA- Kriterien aus technischen Gründen keine Rolle.

-HLA, Bf und Krankheitsassoziation

Neben Erkenntnissen über die Bedeutung des HLA Systems für die Transplantation und die Regulation der Immunantwort häuften sich in den letzten Jahren Berichte über die zum Teil hochgradige Assoziation verschiedener Erkrankungen mit Faktoren des MHC.

Tabelle I zeigt eine Liste der bisher statistisch gesicherten Krankheitsassoziationen mit den jeweiligen HLA Antigenen (16,30,31,37,103).

<u>Erkrankung</u>	<u>HLA-Antigene</u>
akute Lymphoblastische Leukämie	A2
idiopathische Hämochromatose	A3
ankylosierende Spondylitis (M.Bechterew)	B27
Reiter Syndrom	B27
Arthritis psoriatica	B27
Iridocyclitis	B27
Dermatitis herpetiformis Duhring	B8
Zöliakie	B8, Dw/DR3,7
Myastenia gravis	B8, Dw/DR3
M.Basedow	B8, Dw/DR3
juveniler Diabetes mellitus	B8, B15, Dw/DR3,4
chronisch aggressive Hepatitis	B8, Dw/DR3
multiple Sklerose	Dw/DR2
M.Addison	Dw/DR3
rheumatoide Arthritis	Dw/DR4

Hieraus läßt sich erkennen, daß klinisch verwandte Erkrankungen wie z.B. M.Bechterew, Reiter Syndrom und Iridocyclitis auch eine Assoziation mit demselben Antigen HLA-B 27 aufweisen. Weiterhin zeigt sich die vornehmliche Assoziation der Erkrankungen mit Allelen der HLA-B und DR Genorte neben wenigen HLA-A Verknüpfungen. Bei vielen dieser Erkrankungen wird eine Beteiligung des Immunsystems in der Pathogenese vermutet, auch läßt sich eine familiäre Häufung nachweisen(4,79).

Populationsgenetische Untersuchungen haben gezeigt, daß bestimmte Erkrankungen in den verschiedenen Populationen eine Assoziation mit unterschiedlichen HLA-Allelen aufweisen (z.B. Thyreotoxikose bei Europäern mit HLA-B 8, bei Japanern mit HLA-Bw 35).(4) Dies legt die Vermutung nahe, daß nicht die HLA Gene selbst direkt an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sind, sondern bestimmte Krankheitsempfindlichkeitsgene, die in enger Kopplung zu den jeweiligen HLA Genen stehen. Aufgrund ihrer engen Verbindung mit den Krankheitsem-

empfänglichkeitsgenen könnten die HLA Gene als einfach zu bestimmende Markergene für die entsprechenden Krankheiten dienen. Da die meisten der bisher untersuchten Erkrankungen eine Assoziation mit Allelen des HLA-B oder HLA-DR Genortes aufweisen, vermutet man die Position der Krankheitsempfänglichkeitsgene in enger Nachbarschaft dieser Genorte, eventuell dazwischen.

Der genaue ätiopathogenetische Mechanismus der Krankheitsempfänglichkeit ist noch nicht geklärt, es werden verschiedene Vermutungen hierüber geäußert. Bei vielen der mit HLA-D/DR assoziierten Erkrankungen wird eine Störung in der Regulation der Immunantwort als wichtiger Faktor in der Pathogenese beobachtet (z.B. M.Addison, Myasthenia gravis, DR 3). Dabei könnte man z.B. defekte Immunantwortgene als Substrat für die Krankheitsempfänglichkeit annehmen. Die mit HLA-A und HLA-B assoziierten Krankheitsempfänglichkeitsgene könnten möglicherweise als Zielstrukturen für zellvermittelte Zytotoxizitätsreaktionen dienen(4). Bei einigen Erkrankungen, die primär mit HLA-DR Antigenen assoziiert sind (Multiple Sklerose, Diabetes mellitus) konnten auch Kopplungsungleichgewichte mit einigen seltenen C2, C4 und Bf-Allelen nachgewiesen werden (34,59,60). Es könnten defekte Komplementgene in ätiopathogenetischem Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen stehen. (z.B. C2 Hypocomplementämie in lupusähnlichen Erkrankungen festgestellt) Es wäre auch denkbar, daß Komplementgene noch enger mit den entsprechenden Krankheitsempfänglichkeitsgenen verbunden sind als die damit assoziierten HLA Antigene (86).

Die genetische Disposition ist jedoch nicht der einzige Faktor bei der Entstehung einer Krankheit. An Zwillingsuntersuchungen konnte die Bedeutung der Umweltfaktoren für die Manifestation einer Krankheit nachgewiesen werden.(Diskordanz eineiiger Zwillinge) Nähere Erkenntnisse über die Charakteristik der Krankheitsempfänglichkeitsgene verspricht man sich von Untersuchungen der DNA an den vermuteten Genloci.

Da für die meisten Erkrankungen keine 100 %ige Assoziation mit den jeweiligen HLA-Antigenen nachgewiesen werden kann, ist ihre Bedeutung für diagnostische Zwecke nur untergeordnet. Lediglich für die Spondylarthritis ankylopoetica, bei der eine 90 %ige Assoziation mit HLA-B 27 gefunden wurde, wird der Nachweis dieses Antigens als wichtiges diagnostisches Kriterium eingesetzt(100).

III. MATERIAL UND METHODEN

I. Krankenkollektiv

Das Krankengut umfaßt 101 Sklerodermiepatienten, die alle aus München und Umgebung stammen und der Bf-Testung unterzogen wurden. 94 dieser Patienten waren zusätzlich HLA typisiert. Weitere 53 Patienten mit bekanntem HLA-Muster, jedoch ohne Bf-Bestimmung wurden aus dem Patientenkollektiv von E. Mehlhaff übernommen, die sich mit der Untersuchung des HLA-Systems bei Sklerodermie in einer vorausgehenden Arbeit befaßt hatte(75). Somit ergibt sich folgende Konstellation:

-Bf getestet:	101 Patienten	(Gruppe 1)
-HLA typisiert:	146 Patienten	(Gruppe 2)
-HLA-DR und Bf getestet:	95 Patienten	(Gruppe 3)

In Gruppe 1 befanden sich 72 Frauen zwischen 15 und 80 Jahren, und 29 Männer zwischen 13 und 74 Jahren, die Krankheitsdauer erstreckte sich von 2 bis 29 Jahren, das Erkrankungsalter lag zwischen 5 und 69, wobei ein Gipfel zwischen 30 und 55 Jahren zu beobachten ist.

In Gruppe 2 befanden sich 109 Frauen zwischen 15 und 80 Jahren, und 38 Männer zwischen 13 und 74 Jahren, die Krankheitsdauer wird von 2 bis 29 Jahren angegeben, das Erkrankungsalter lag zwischen 5 und 76 Jahren, mit einem Gipfel zwischen 30 und 55 Jahren.

In Gruppe 3 befanden sich 67 Frauen im Alter von 15 bis 80 Jahren, und 27 Männer im Alter von 13 bis 74 Jahren, die Krankheitsdauer betrug 2 bis 29 Jahre, das Erkrankungsalter lag zwischen 5 und 69 Jahren mit einem Gipfel bei 30 bis 55 Jahren.

Die Diagnose der Erkrankung wurde eindeutig anhand der klinischen Kriterien, der krankheitsspezifischen Laborparameter (siehe S.5) und des viszeralen Befalls gestellt. Zum Vergleich für die Bf-Testung wurden die Daten aus einer Studie über Drei-Punkt- Assoziationen von HLA-A,B,Bf Haplotypen von 200 gesunden Personen aus der Münchner Umge-

bung herangezogen(7). Für den Vergleich der HLA Typisierung dienten die Daten von 4000 gesunden Personen, die dem Histocompatibility Testing 1980 entnommen wurden(55). Die Größe der Kontrollgruppe wurde jeweils auf 100 gesetzt.

2. HLA- Typisierung

Die HLA-Typisierung erfolgte nach dem Mikrolymphocytotoxizitätstest nach Terasaki und McClelland(1964).

Das Testprinzip besteht darin, daß isolierte Humanlymphozyten mit spezifischen HLA-Antisera in Anwesenheit von Kaninchenkomplement inkubiert werden. Findet eine Antigen-Antikörperreaktion unter Verbrauch von Komplement statt, wird die Zellmembran dadurch geschädigt. Ein zugesetzter Indikatorfarbstoff (Eosin) kann in die lysierten Zellen eindringen und sie anfärben - positive Reaktion. Die Zellen erscheinen im Mikroskop groß und dunkel gegenüber den nicht geschädigten kleinen hellen Zellen.

Die zur Testung verwendeten Antisera werden von schwangeren, multiparen Frauen gewonnen, die im Laufe der Schwangerschaft Antikörper gegen die vom Vater geerbten kindlichen Lymphozytenantigene bilden (108).

-T-und B-Zellpräparation

Von 20 ml heparinisiertem, ungefähr 1:1 mit NaCl verdünntem Blut werden jeweils 5ml auf 3ml Ficoll- Isopaque- Lösung in Röhrchen überschichtet, und 10 Minuten bei 2500 U/min zentrifugiert. Die Lymphozyten sammeln sich dabei in einem Ring zwischen Plasma und Ficoll. Sie werden abpipettiert und in einem spitzen Röhrchen 2 mal mit 10ml Hank'scher Lösung gewaschen und jeweils 10 Minuten bei 1500 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen. Danach werden die Zellen im Gewebekulturmedium resuspendiert. Die in dieser Suspension vorhandenen T- und B-Lymphozyten können aufgrund der Adhärenzneigung der B-Lymphozyten getrennt werden, indem 0,5ml der Suspension auf die Nyloonsäule eines vorgewärmten, mit McCoy's (20% FKS) durchgespülten Strohhalmes gegeben wird und 30 Minuten bei 37 Grad inkubiert wird. Die nicht anhaftenden T-Zellen, die für die HLA-A,B,C Testung bestimmt sind, werden durch Spülen mit 7ml

McCoy's (20% FKS) eluiert. Die adhärenenten, zur HLA-DR Typisierung benötigten B-Lymphozyten werden unter Durchspülen mit 1 bis 2ml der gleichen Lösung ausgequetscht. Die so gewonnenen T- und B-Lymphozytensuspensionen werden gezählt und auf 2000/ml eingestellt.

Die lymphozytotoxische Reaktion erfolgt auf Mikrotestplatten, die 60 kegelförmige Vertiefungen aufweisen. In diesen werden jeweils 1 μ l Antiserum mit 1 μ l Lymphozytensuspension unter Parrafinabschluß 30 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubiert (für B-Zellen bei 37 Grad Celsius). Nach Zugabe von 5 μ l Kaninchenkomplement erfolgt eine weitere Inkubation von 60 Minuten Dauer (für B-Zellen 120 Minuten). Der Komplementüberschuß soll einer möglichen Antikomplementarität der Lymphozytenlösung oder der Antiseren entgegenwirken. Die Färbung erfolgt anschließend mit 5 μ l Eosin 5%, zur Fixierung wird 5 μ l Formalin verwendet. Im Phasenkontrastmikroskop werden nun die durch die abgelaufene Antigen- Antikörper-Reaktion geschädigten, angefärbten dunklen Zellen in Prozent geschätzt und folgendermaßen angegeben:

- + = 10 - 20% lysierte Zellen
- ++ = 20 - 50% lysierte Zellen
- +++ = 50 - 70% lysierte Zellen
- ++++ = 70 - 100% lysierte Zellen

3. Bf Testung

Der Arbeitsvorgang zur Bestimmung der 4 Bf Banden besteht aus 3 Schritten (85,101):

- Dünnschicht-Agarosegel Elektrophorese
- Immunfixierung mit Anti-C3 Aktivator
- Färbung mit Coomassie Brilliant Blue R 250 Lösung

Zur Bestimmung der einzelnen Bf Banden muß das Bf-Protein von den anderen Serumproteinen getrennt werden und in seine Untergruppen aufgespaltet werden. Dies geschieht durch die Gelelektrophorese. Das Prinzip der Bf Testung erklärt sich daraus, daß verschiedene Proteine bei einem definierten pH Wert selten die gleiche elektrische Nettoladung haben, und somit im elektrischen Feld unterschiedlich schnell wandern,

wodurch sie aufgetrennt werden können. Durch Inkubation der aufgetrennten Proteine mit einem spezifischen Antikörper (Antihumanserum= Anti-C3-Aktivator) findet eine Antigen-Antikörper Reaktion statt, wodurch sich unlösliche Antigen-Antikörper Komplexe bilden, die mit Hilfe eines speziellen Farbstoffes sichtbar gemacht werden können. Dies ergibt die einzelnen Bf Bandenmuster.

4ml Nativblut werden bei ungefähr 3000U/min 10 Minuten zentrifugiert, anschließend wird das Serum abpipetiert.

Aus 0,6g Behring Agarose und 72ml Gelpuffer (Barbital Na, Barbital, Ca Laktat, Aqua dest.) wird ein Gel gekocht und je 17ml heißes Gel gleichmäßig auf 4 gereinigte, fettfreie Glasplatten (9x12x2cm) gegossen. Nach 20 Minuten Abkühlung werden die Gelplatten für 4 Tage in einer feuchten Kammer im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend werden 6 1cm große Schlitze mit Filterpapier ca 3 - 4cm vom unteren Gelrand in die Gele gestochen, und die Schlitze mit 5 μ l des Testserums beimpft. Auf jeder Platte läuft an erster Stelle das Referenzserum mit. Um Schlierenbildung zu vermeiden muß darauf geachtet werden, daß die Gelränder nicht einreißen. Weiterhin ist für eine exakte Darstellung wichtig, daß kein Plasma sondern Serum verwendet wird, da das Bf-Protein offensichtlich reversible Bindungen mit Heparin und seinen Derivaten eingeht, was zu verzerrten Bandenmustern führen würde. Die Glasplatten werden nun so auf die trockene Metallschiene des Elektrophoresegerätes gelegt, daß das Serum von der Kathode zur Anode laufen kann. Die 4 Kammern des Gerätes werden mit je 500ml Brückenpuffer gefüllt. Für die Puffer- Puffer Überbrückung der Kammern und die Puffer-Gel Verbindung werden Filterstreifen verwendet. 9x4,5cm große Streifen werden von Vorne und Hinten auf die Gele gelegt. Wegen der Wärmeentwicklung werden die Gelplatten von oben durch eine Glasplatte, an der ein nasser Papierstreifen klebt, in ca. 1cm Höhenabstand zu den Gelen abgedeckt. Zusätzlich wird die Wasserkühlung eingeschaltet. Das Gerät wird auf 470V eingestellt, wobei ein Strom von ca. 55mA/Gelplatte fließt. Die Laufzeit beträgt zweieinhalb Stunden.

Danach werden die Gelplatten mit 0,3ml Antiserum (Anti-C3 Aktivator) beschickt, das mit einem Glasstab rollend über das Gel verteilt wird. Die Inkubationszeit in einer feuchten Kammer beträgt dann 2 Stunden. Anschließend wird das überschüssige Antiserum durch Filterpapier herausgepreßt. Die Gelplatten werden danach für mindestens 15 Stunden in physiologische

NaCl Lösung und anschließend für 24 Stunden in Aqua dest. eingelegt. Nach dem Trocknen im Luftstrom erfolgt das Anfärben über 20 bis 30 Minuten in einer 0,075% igen Coomassie Brilliant Blue R250 Lösung. Zum Entfärben der Gele wird eine Lösung aus 96%igem Äthanol, Aqua dest. und Eisessig verwendet. Das Entfärben dauert nur wenige Sekunden und geschieht nach Sicht. Anhand des Referenzserums auf jeder Platte werden die Bf Bandenmuster bestimmt.

Dabei lassen sich zwei schnell wandernde Banden vom F oder F₁ Typ ,und zwei langsam wandernde Banden vom S und S₁ Typ unterscheiden. Die Farbintensität der Banden läßt meist eine Aussage über Homozygotie bzw. Heterozygotie zu.

4. Statistische Anmerkung

a) Bf Genfrequenzzählung

Das Bf-System ist durch einen Locus mit 4 Allalen S₁,F₁,S₁,F₁ ,determiniert. Ist phänotypisch nur ein Allel vorhanden, wird angenommen, daß der Patient homozygot für dieses Allel ist. Daraus lassen sich die Genfrequenzen durch einfache Genzählung ermitteln.

b) Haplotypfrequenzzählung

Der Genotyp eines Patienten kann eindeutig nur anhand von Familienanalysen bestimmt werden. Da diese Familiendaten bei den Sklerodermiepatienten nicht vorlagen, mußte der für jeden Patienten wahrscheinlichste Genotyp mit Hilfe statistischer Methoden errechnet werden.

In dieser Arbeit interessierten vor allem die HLA-DR-Bf Haplotypfrequenzen. Einige Haplotypen konnten aufgrund des Phänotyps eindeutig zugeordnet werden, z.B. DR 3,5 Bf SS $\longrightarrow$ DR 3-S, DR 5-S

In anderen Fällen mußte ein spezielles Iterationsverfahren angewendet werden. Die Genfrequenzzählung erfolgte dabei zunächst nach dem maximum likelihood Verfahren (2):

Für den Phänotyp DR 2,3 Bf FS gibt es 2 Möglichkeiten:

$$w_1 = \text{DR 2-S , DR 3-F}$$

$$w_2 = \text{DR 2-F , DR 3-S}$$

Man nimmt zunächst an, daß beide Möglichkeiten gleich häufig vorkommen, somit wird jeder Haplotyp mit 0,5 gewertet (4x0,5=2 Haplotypen).

Für den Phänotyp DR3, Bf FS gibt es 3 Möglichkeiten:

$$w_1 = \text{DR 3-S, DR 3-F}$$

$$w_2 = \text{DR 3-S, DR X-F}$$

$$w_3 = \text{DR X-S, DR 3-F}$$

Analog wird jeder Haplotyp mit 0,33 gewertet, das heißt für DR 3-S wird 0,66 addiert, bei DR 3-F ebenfalls 0,66, bei DR X-S 0,33, und bei DR X-F auch 0,33. Nachdem alle unklaren Haplotypen auf diese Art und Weise in einem ersten Schritt festgelegt wurden, ergibt sich für jeden Haplotypen eine bestimmte Häufigkeit. Unter Berücksichtigung dieser neu ermittelten Häufigkeitsverteilung werden alle unklaren Haplotypen erneut dem oben beschriebenen Verfahren unterzogen. Für das erste Beispiel ergibt sich somit für das Auftreten der ersten Möglichkeit w_1 :

$$w_1(2,S/3,F) = \frac{2 \times hf(2,S) \times hf(3,F)}{2 \times hf(2,S) \times hf(3,S) + 2 \times hf(2,F) \times hf(3,S)}$$

Unter der Annahme, daß im ersten Schritt die Häufigkeiten mit $hf(2,S)=0,05$, $hf(3,F)=0,02$, $hf(2,F)=0,01$, $hf(3,S)=0,06$ ermittelt wurden, errechnet sich für w_1 eine Häufigkeit von 0,625. Somit wird 0,625 bei (2,S) und (3,F) dazugezählt, während 0,375 bei (3,S) und (2,F) addiert wird. Dadurch erhält man eine neue Häufigkeitstabelle. Dieses Iterationsverfahren kann beliebig oft angewendet werden, meist genügen jedoch wenige Durchgänge, um Stabilität in den Häufigkeitsverteilungen zu erreichen. Diese letzten Ergebnisse dienen dann als Grundlage für die Haplotypfrequenzzählung.

Mit diesem Verfahren wurden auch die B-Bf und B-DR-Bf Haplotypfrequenzen gezählt.

c) χ^2 Test, p- Wert, Relatives Risiko

Um die Frage nach einer möglichen Krankheitsassoziation der Sklerodermie mit bestimmten HLA-Antigenen bzw. Bf Mustern beantworten zu können, müssen die ermittelten Haplotypfrequenzen mit Werten aus einer Kontrollpopulation einer Signifikanzanalyse unterzogen werden. Als Berechnungsgrundlage dient der χ^2 -Test.

Dabei werden die Daten der Patientengruppe und der Kontrollgruppe für das zu untersuchende Antigen X in einer 4-Felder Tafel folgendermaßen zusammengestellt:

	Patienten	Kontrolle	Summe
mit Antigen X	A	B	A+B
ohne Antigen X	C	D	C+D
Summe	A+C	B+D	A+B+C+D=N

χ^2 errechnet sich nach der Formel:

$$\chi^2 = \frac{\left[(AD - BC) - \frac{N}{2} \right]^2 \times N}{(A+C) \times (B+D) \times (A+B) \times (C+D)}$$

Für den Fall, daß ein ermittelter Wert mit einem erwarteten Wert in derselben Population verglichen werden soll (z.B. Hardy-Weinberg Gesetz) findet in Abwandlung folgende Formel Anwendung:

$$\chi^2 = \frac{(\text{erwarteter Wert} - \text{beobachteter Wert})^2}{\text{erwarteter Wert}}$$

Bei kleinen Fallzahlen ergibt sich dabei die Schwierigkeit, daß schwache Assoziationen nicht als signifikant hervortreten, sondern erst bei großen Fallzahlen signifikant werden, was natürlich sinnvoll ist. Das Problem der geringen Fallzahlen tauchte auch in dieser Arbeit auf, wodurch dann eine Signifikanzanalyse nicht mehr aussagekräftig bzw. sinnvoll ist.

Das Signifikanzniveau wird durch den p-Wert bestimmt, der die Irrtumswahrscheinlichkeit angibt. Unter Irrtumswahrscheinlichkeit versteht man die Wahrscheinlichkeit, mit der ein bestimmter Wert zufällig erreicht werden könnte. Unter Berücksichtigung der Freiheitsgrade kann der p-Wert mit Hilfe der χ^2 Tafel (z.B. Geigy-Tabellen) nachgeschlagen werden. Für statistisch signifikante Werte sollte $p < 0,05$ sein, was z.B. bei einem Freiheitsgrad einem χ^2 von 3,84 entspricht.

Eine Überschätzung der statistischen Signifikanz soll durch die p-Korrektur vermieden werden, wobei der p-Wert mit der Anzahl der getesteten Parameter

(z.B.HLA-Antigene) multipliziert wird.

Das relative Risiko ist ein Maß der Assoziation z.B. eines HLA-Antigens mit der untersuchten Erkrankung. Es gibt an, wieviel mal häufiger antigen-positive Personen im Vergleich zu antigen- negativen Individuen an dieser Krankheit erkranken. Es wird nach folgender Formel bestimmt:

$$\text{relatives Risiko} = \frac{\text{Ag pos. Patienten} \times \text{Ag neg. Kontrolle}}{\text{Ag pos. Kontrolle} \times \text{Ag neg. Patienten}}$$

IV. ERGEBNISDARSTELLUNG

1. Aufstellung der Bf-Phänotypen nach der Hardy-Weinberg Verteilung

Die statistische Häufigkeitsverteilung der Genotypen in einer idealen Population wird nach dem Hardy-Weinberg Gesetz $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ berechnet. In Tabelle I sind die beobachteten und erwarteten Bf-Phänotyphäufigkeiten einander gegenübergestellt. Unter Anwendung des Hardy-Weinberg Gesetzes ergibt sich eine optimale Übereinstimmung der erwarteten Werte mit der beobachteten Phänotypverteilung. Dies bestätigt zunächst, daß bei der Durchführung der Experimente kein systematisch technischer Fehler unterlaufen ist. Zudem bekräftigt es die Hypothese eines Genortes mit 4 Allelen Bf S, F, F_1 , S_1 , und somit den Polymorphismus des Bf-Systems. Die Verteilung der Homozygoten und Heterozygoten entspricht der statistischen Wahrscheinlichkeit.

2. Zählung der Bf-Haplotypen zur Ermittlung der Häufigkeiten der einzelnen Bf-Allele

Tabelle II zeigt die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Bf-Allele S, F, S_1 , F_1 in der Gesamtgruppe der Sklerodermiepatienten, die durch einfache Zählung ermittelt wurde. Die Daten der Kontrollpopulation wurden einer Studie über 3-Punkt-Assoziationen von HLA-A,B,Bf Haplotypen entnommen, die Albert et al. an 100 Münchner Familien durchgeführt haben (7). Für die relativ häufigen Bf S und F Allele konnte im Vergleich keine signifikante Frequenzerhöhung festgestellt werden, ebenso wenig für das seltene Bf F_1 Allel, die Werte entsprachen sich sogar nahezu. Das seltene Bf S_1 Allel trat bei den untersuchten 101 Sklerodermiepatienten überhaupt nicht auf, was aber wohl aufgrund der geringen Fallzahl zu sehen ist, da es in der Normalbevölkerung auch nur mit einer Frequenz von 0,75% vorkommt. Somit läßt sich die erhoffte Annahme über eine Auffälligkeit im Bf-System bei der Sklerodermie nicht bestätigen. Daraus ergibt sich, daß die Bf Allele wahrscheinlich nicht mit dem / den HLA gekoppelten Krankheitsempfänglichkeitsgenen für Sklerodermie assoziiert sind, wie das z. B. bei der Zöliakie, für den Diabetes mellitus oder die multiple Sklerose gefunden werden konnte (22,34,59,60). Es liegen diesbezüglich auch keine Vergleichsstudien aus anderen Arbeitsgruppen vor.

3. Vergleich der Bf Genfrequenzen in den Untergruppen der Sklerodermie

Da die Sklerodermie aufgrund ihres klinischen Erscheinungsbildes wie bereits erwähnt in 4 Untergruppen unterteilt werden kann, wurden auch diese auf ihre Bf Verteilung überprüft, um mögliche Zusammenhänge zwischen den unterschiedlichen Ausprägungsmustern der Sklerodermie und den HLA bzw. Bf Haplotypkonstellationen zu erfassen. Dabei ergibt sich für die Gruppe der Akrosklerodermie, der progressiv ascendierenden Sklerodermie mit Entzündung sowie für die zirkumskripte Sklerodermie keine signifikante Frequenzerhöhung im Vergleich zur Gesamtgruppe. In der Gruppe der proximal ascendierenden Sklerodermie ohne Entzündung zeigte sich eine deutliche Frequenzverschiebung für Bf S mit 92% und Bf F mit 6% , was jedoch aufgrund der geringen Fallzahl von 18 Patienten das Niveau der statistischen Signifikanz nicht erreicht. Auffallend ist auch das Ergebnis in der Gruppe der Stammsklerodermie, wo lediglich das Bf S Allel zu finden ist, jedoch läßt sich auch hier bei nur 4 Patienten keine zulässige Schlußfolgerung ziehen.

Tabelle III zeigt die Bf Verteilung bei weiblichen und männlichen Sklerodermiepatienten. Dabei läßt sich bei den Männern eine leichte Bf S Erniedrigung und kompensatorisch eine Bf F Erhöhung erkennen, wogegen sich bei den Frauen ein gegenteiliges Muster darstellt. Diese Veränderungen werden aber nicht signifikant. Ebenso finden sich keine signifikanten Unterschiede in den Gruppen der entzündlichen bzw. der nicht entzündlichen Form der Sklerodermie.

4.HLA-B und DR Genfrequenzzählung

Auf der Suche nach möglichen Zusammenhängen zwischen Produkten des MHC und der Sklerodermie sind bereits mehrfach Untersuchungen über die HLA-A,B und DR Häufigkeitsverteilungen bei Sklerodermiepatienten durchgeführt worden, zuletzt in einer Dissertationsarbeit von E. Mehlhaff. Da ich auf einteilweise identisches Patientenkollektiv wie Mehlhaff zurückgreifen konnte(42 Patienten kamen dazu), lassen sich die Ergebnisse gut vergleichen. Im HLA-B Locus zeigen einige Antigene leichte Veränderungen im Vergleich zur Kontrollpopulation (B7, B8, Bw35), signifikante Frequenzerhöhungen treten jedoch nicht auf. Die Vermehrung des HLA-B8 Antigens ($B8=12,73$, $X^2=2,6$) die in einigen Studien beschrieben wurde (38,54,83), ließ sich hier nur geringfügig nachvollziehen, was mit den Ergebnissen von Mehlhaff übereinstimmt.

Wie aus Tabelle IV ersichtlich ist finden sich auch im DR-Locus einige Frequenzverschiebungen. HLA-DR 1 ($\chi^2=3,76$), DR 2 ($\chi^2=4,36$) und DR 5 ($\chi^2=11,36$) treten vermehrt auf, während HLA-DR 7 ($\chi^2=3,8$) vermindert zu sein scheint, wobei die Werte für HLA-DR 2 und DR 5 statistisch signifikant werden. Tendenzmäßig zeigten sich diese Resultate auch bei Mehlhaff, lediglich die HLA-DR 7 Verminderung trat hier neu auf. Die von ihr gefundene HLA-DR 4 Verminderung war nicht mehr zu sehen. Auch in anderen Studien wurde HLA-DR 5 vermehrt gefunden (20,43,71), wodurch die p-Korrektur hier entfällt. Die Frequenzerhöhung für HLA-DR 2 hält der p-Korrektur nicht stand.

Es wäre zu diskutieren, ob HLA-DR 7 eventuell eine protektive Funktion beim gemessen werden könnte, wie dies bereits für HLA-DR 4 angesprochen wurde.

In den Sklerodermie-Untergruppen herrscht im Wesentlichen das Verteilungsmuster der Gesamtgruppe vor. Allerdings fiel in der Gruppe der Akro-sklerodermie und der zirkumskripten Sklerodermie eine HLA-DR 2 Verminderung im Gegensatz zur HLA-DR 2 Erhöhung in der Gesamtgruppe auf.

5. HLA-Bf Haplotypkombinationen in der Gesamtgruppe und in einzelnen Untergruppen

Obwohl für das Bf-System alleine keine Abweichungen gegenüber der Kontrolle festgestellt werden konnten, wäre es dennoch möglich, daß in der Verbindung einzelner Bf Allele mit Antigenen der HLA Genorte auffällige Unterschiede sichtbar werden. Um dies zu prüfen, wurden 2-Punkt Assoziationsanalysen an HLA-DR-Bf und HLA-B-Bf Haplotypkombinationen durchgeführt.

Nachdem sich bereits in mehreren Studien für den HLA-DR Genort mit HLA-DR 1, DR 2 und DR 5 die stärkste Assoziation mit den Krankheitsempfindlichkeits genen für die Sklerodermie herauskristallisiert hatte (20,43,71,75), galt das Interesse primär den HLA-DR Haplotypkonstellationen.

Wie aus Tabelle VI zu sehen ist, fand sich für HLA-DR 5-Bf S ($\chi^2=7,9$) und HLA-DR 1-Bf S ($\chi^2=5,2$) eine signifikante Frequenzerhöhung gegenüber der Kontrolle, HLA-DR 7-Bf S ($\chi^2=4,0$) trat dagegen signifikant seltener auf. Nach der p-Korrektur sind die Werte jedoch statistisch nicht mehr auffällig. Zusätzlich war die Frequenz für HLA-DR 2-Bf S leicht erhöht ($\chi^2=1,9$), für HLA-DR 7-Bf F erniedrigt ($\chi^2=2,56$). Die Ergebnisse sind jedoch nicht weiter überraschend, da diese HLA-DR Genfrequenzen für sich alleine schon eine signifikante Frequenzänderung aufweisen, und Bf S mit 80% das häufigste

Bf Allel darstellt. Somit fallen diese Häufigkeitsverteilungen primär auf den HLA-DR Genort zurück und geben keine zusätzlichen Informationen bezüglich der Krankheitsassoziation.

-Verteilung der HLA-DR-Bf Haplotypen in den Untergruppen der Sklerodermie

Die Aufteilung der Sklerodermie in Untergruppen geschieht nach klinischen und laborchemischen Gesichtspunkten. Auffälligkeiten im HLA-DR-Bf Verteilungsmuster dieser Gruppen könnten für pathogenetische Überlegungen Bedeutung gewinnen.

-Akrosklerodermie

Die Gruppe der Akrosklerodermie zeigt wie die Gesamtgruppe eine Vermehrung der HLA-DR 1-Bf S und DR 5-Bf S Haplotypen, sowie eine Frequenzminderung für HLA-DR 7-Bf S, zusätzlich ist HLA-DR 4-Bf F vermindert ($\chi^2 = 1,9$), ebenso HLA-DR 4-Bf S. Diese Veränderungen sind wiederum primär im HLA-DR Genort zu lokalisieren.

-proximal aufsteigende Sklerodermie

Hier ergibt sich folgendes Bild: HLA-DR 1-Bf S, HLA-DR 2-Bf S, und HLA-DR 5-Bf S zeigen erhöhte Frequenzen, während HLA-DR 4-Bf S vermindert vorkommt. HLA-DR 7-Bf S tritt in dieser Gruppe nicht auf. Auch hier sind die Assoziationen in erster Linie auf den HLA-DR Genort zurückzuführen. Das völlige Fehlen von HLA-DR 7-Bf S ist bei der relativ großen Fallzahl von 51 Patienten doch auffallend.

-Zirkumskripte Sklerodermie

Bei der ZS ist die HLA-DR 4-Bf S sowie die HLA-DR 7-Bf S Vermehrung auffallend im Verhältnis zur Verminderung dieser Haplotypen in den anderen Gruppen sowie in der Gesamtgruppe. Diese Werte sind jedoch ohne statistische Relevanz. Die Ursache liegt ebenso wie in den anderen Gruppen primär in der positiven HLA-DR 4 und DR 7 Assoziation. Unter der Annahme einer protektiven Funktion für HLA-DR 4 und DR 7 bezüglich der Ver-

laufsform der Sklerodermie könnte das Ergebnis im Zusammenhang mit der relativ günstigen Prognose für die ZS gesehen werden.

- entzündliche Form der Sklerodermie

Das Ergebnis gleicht hier dem Verteilungsmuster der Gesamtgruppe, es fallen keine zusätzlichen Veränderungen auf. Die HLA-DR 1-Bf S Vermehrung ist ausgeprägter als die HLA-DR 5-Bf S Vermehrung.

- nicht entzündliche Form der Sklerodermie

Wie aus Tabelle VI g zu ersehen ist, sind auch hier keine Unterschiede im Frequenzmuster der HLA-DR-Bf Haplotypen im Vergleich zur Gesamtgruppe zu sehen. Die Vermehrung von HLA-DR 5-Bf S wird hier statistisch signifikant mit $\chi^2 = 5,0$.

- Vergleich männliche Patienten - Kontrolle

Die Frequenzen für HLA-DR 1-Bf S und HLA-DR 5-Bf S sind geringfügig im Vergleich zur Kontrolle erhöht, HLA-DR 7-Bf S ist leicht vermindert. Die Werte erreichen jedoch nicht das Signifikanzniveau. Die Assoziation besteht wieder primär zum HLA-DR Genort.

- Vergleich weibliche Patienten - Kontrolle

Das Verteilungsmuster gleicht dem der Gesamtgruppe, wobei die Werte für HLA-DR 2-Bf S ($\chi^2 = 5,7$) und HLA-DR 5-Bf S ($\chi^2 = 6,6$) statistisch signifikant werden. Sie halten jedoch den verschärften Signifikanzkriterien nicht stand.

- Vergleich männliche Patienten - weibliche Patienten

Aus dieser Gegenüberstellung ist zu erkennen, daß die Frequenzerhöhung HLA-DR 1-Bf S, HLA-DR 2-Bf S und HLA-DR 5-Bf S bei den weiblichen Patienten deutlich ausgeprägter ist als bei männlichen Patienten. Die Veränderungen in der Gesamtgruppe diesbezüglich werden somit stärker von den weiblichen Patienten getragen, wie auch im Vergleich mit der Kontroll-

population zu sehen war.

6. HLA-B-Bf Haplotypfrequenzen

Aufgrund der eng vermuteten Nachbarschaft des HLA-B und Bf Locus wurden als nächstes noch die HLA-B-Bf Haplotypen auf ihre Verteilung analysiert. Albert et al. (7) fanden bereits 1975 in einer Studie über Rekombinationshäufigkeiten und Kopplungsungleichgewicht zwischen HLA-B und Bf Allelen in einer Normalpopulation signifikante Assoziationen. In zwei weiteren Untersuchungen über 3-Punkt-Assoziationen von HLA-A,B,Bf Haplotypen von Albert 1977 (6) und Bertrams et al 1979 (17) kristallisierten sich folgende signifikante Kopplungsungleichgewichte heraus: HLA-B 7-Bf S, HLA-B 8-Bf S, HLA-B 12-Bf F und HLA-Bw35-Bf F. Zusätzlich konnte beobachtet werden, daß das seltene Bf F₁ Allel häufig mit HLA-B18, sowie das Bf S₁ Allel häufig mit HLA-Bw21 vergesellschaftet ist. In Tabelle VII sind die HLA-B-Bf Haplotypkonstellationen unseres Patientenkollektivs dargestellt. Dabei ergibt sich für HLA-B 7-Bf S eine leichte Frequenzerhöhung, sowie für HLA-Bw 62-Bf S eine signifikante Frequenzerniedrigung mit $\chi^2 = 6,8$, die jedoch nach der p-Korrektur nicht mehr auffällig ist. Die übrigen Haplotyphäufigkeiten entsprechen der Verteilung in der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse sind wiederum primär auf die Assoziation im HLA-B Genort zurückzuführen, wo sich bereits eine leichte HLA-B 7 Vermehrung bzw. HLA-Bw 62 Verminderung nachweisen ließ. Die oben erwähnte häufige Vergesellschaftung des HLA-B18 Allels mit Bf F₁ ist auch in der Gruppe der Sklerodermiepatienten auffällig zu sehen, was jedoch ohne Relevanz für die Sklerodermie bleibt.

7. Analyse einer HLA-3-Punkt Assoziation an HLA-B-Bf-DR Haplotypen

Es wäre denkbar, daß die Krankheitsempfänglichkeit für Sklerodermie von mehreren, funktionell eng gekoppelten Produkten des MHC getragen wird, und daß signifikante Assoziationen mit dem / den Krankheitsempfänglichkeitsgenen erst im gemeinsamen Auftreten dieser MHC-Spezifitäten deutlich werden können. Aus dieser Überlegung heraus sollen nun nach den 2-Punkt Assoziationen HLA-DR-Bf und HLA-B-Bf noch die HLA-B-Bf-DR Haplotypen auf ihr Verteilungsmuster hin untersucht werden, nachdem bereits Zusammenhänge zwischen einzelnen Allelen des HLA-B und HLA-DR Genortes mit der Krankheit gefunden werden konnten.

In einer Studie über HLA-A,B,Bf 3-Punkt Assoziationen an einer gesunden Population fanden Bertrams et al. 1979 (17) einige signifikant assoziierte Haplotypen wie beispielsweise:

HLA-A3Bw35 Bf F, HLA-A28 B12 Bf S, HLA-Aw30 B18 Bf S, HLA-Aw24 B12 Bf F, um nur einige zu nennen.

Wäre ein funktionelles Zusammenwirken einzelner Gene für die Krankheitsempfindlichkeit der Sklerodermie von Bedeutung, müßte sich dies auch in einer Assoziation der Marker untereinander widerspiegeln (7,88).

An unserem Patientenkollektiv ließen sich keine signifikanten 3-Punkt Assoziationen der HLA-B-Bf-DR Haplotypen nachweisen, lediglich geringfügige Abweichungen zur Kontrollgruppe wurden sichtbar. Das Ergebnis wird jedoch dadurch relativiert, daß die auffälligen Kopplungsgruppen bereits in der Kontrollpopulation im Vergleich zu anderen Haplotypen stärker vertreten sind. Der Grund für die Abweichungen ist wohl in erster Linie in der engen Nachbarschaft der Genorte HLA-B, Bf und HLA-DR auf Chromosom Nr.6 zu sehen, die ein Kopplungsungleichgewicht begünstigt. Nicht zuletzt erschwert der relativ geringe Polymorphismus des Bf Systems mit nur drei auftretenden Allelen in unserem Testmaterial das Auffinden signifikanter Assoziationen.

8. Versuch einer Orientierung über die primäre Krankheitsassoziation

Die Frage nach der primären Krankheitsassoziation für Sklerodermie bezüglich des HLA-B,DR oder Bf Genortes ist zwar weitgehend dadurch geklärt, daß sich im Bf System keine Abweichungen im Vergleich zu unserer Kontrolle gezeigt haben, es wäre aber dennoch möglich, daß ein Bf Allel im Vergleich mit einzelnen vermehrt gefundenen HLA-B oder HLA-DR Allelen eine stärkere Kopplung aufweist. Der Vollständigkeit halber soll deshalb kurz das Ergebnis dieser Überprüfung wiedergegeben werden.

Dazu wurden 3 Gruppen gebildet:

Beispielsweise:

- a) Patienten , die sowohl für HLA-DR1 als auch für BfS positiv waren
- b) Patienten, die nur HLA-DR1 aufwiesen, nicht aber BfS
- c) Patienten, die BfS positiv waren, aber kein HLA-DR1 Allel besaßen

Diese wurden jeweils ihrer Kontrollgruppe gegenübergestellt. Für HLA-DRI-BfS, HLA-DR2-BfS, HLA-DR5-BfS und HLA-DR7-BfS zeigte sich jeweils die stärkere Assoziation für den HLA-DR Genort, was daraus zu ersehen war, daß die HLA-DR1,2,und 5 positiven Patienten, unabhängig von der Anwesenheit von BfS gegenüber der Kontrolle vermehrt waren.

Für den HLA-B Genort im Vergleich mit Bf läßt sich keine eindeutige Aussage machen. Da sowohl die HLA-Bw62 positiven Patienten,als auch die Bf S positiven Patienten jeweils gegenüber der Kontrolle vermehrt auftraten, ließ sich keine primäre Kopplung festlegen. Für denHLA-B 7 Bf S Haplotyp erwies sich sogar die Assoziation zu Bf S geringfügig stärker.

Sämtlich Ergebnisse lagen jedoch fernab einer statistischen Signifikanz. Möglicherweise lassen sich die Ergebnisse im HLA-B Genort mit der engen Nachbarschaft bzw. engen Kopplung der HLA-B und Bf Antigene auf Chromosom Nr.6 erklären, die eine eindeutige Zuordnung bezüglich der primären Assoziation nicht zulassen.

V. DISCUSSION

Die Erkenntnisse über die Beteiligung der Histokompatibilitätsantigene im Ablauf der Immunantwort, sowie die Entdeckung einer Assoziation bestimmter Krankheiten, bei denen immunologische Vorgänge in der Pathogenese vermutet werden, mit Antigenen des Histokompatibilitätssystems gaben der genetischen und ätiopathogenetischen Forschung entscheidende Impulse. Von besonderem Interesse ist dabei die Verwendung der HLA Antigene als genetische Marker, mit deren Hilfe einzelne Krankheitsbilder unbekannter Ätiologie und Disposition eventuell neu klassifiziert werden können.

Für die Sklerodermie, bei der auch pathogenetisch immunologische Vorgänge diskutiert werden, konnten bereits in mehreren Studien Assoziationen mit einzelnen HLA Antigenen nachgewiesen werden. So fanden Freudenberg et al., Rabin et al., und Hughes Frequenzerhöhungen für HLA-B 8 (37,54,83). Ebenso wurden Assoziationen mit HLA-A 9 gefunden (27,73,83). Später erschienen auch Berichte von Black et al. (20,21), Gladman et al. (43) und Luder Schmidt (71) über enge Korrelationen mit dem HLA-DR 5 Antigen. In einer vorausgehenden Dissertation von E.Mehlhaß (75) wurden die zuletzt genannten Ergebnisse bestätigt. Gleichzeitig konnte die Verminderung des HLA-DR4 Antigens insgesamt, und des HLA-DR2 Antigens bei der Akrosklerodermie festgestellt werden, was auf die Möglichkeit der Existenz mehrerer Krankheitsempfänglichkeitsgene bei der Sklerodermie hindeuten könnte. In dem dieser Arbeit zugrundeliegenden erweiterten Patientenkollektiv von 146 Personen, welches die 100 Patienten der Studie von Mehlhaß beinhaltet, lassen sich die von ihr gefundenen Ergebnisse tendenzmäßig im Wesentlichen bekräftigen. Im HLA-B Locus ergaben sich auch hier keine signifikanten Frequenzverschiebungen. Die Aussage über die Korrelation des HLA-B8 Antigens mit der Schwere der Erkrankung muß insofern etwas abgeschwächt werden, als für die Akrosklerodermie, eine Unterform mit günstiger Prognose, in unserem Patientenkollektiv eine Frequenzerhöhung für HLA-B8 gefunden wurde. Auch die Beobachtung über mögliche Zusammenhänge des HLA-B 18 Antigens mit dem entzündlichen Verlauf der Erkrankung war hier weniger deutlich nachvollziehbar (entzündliche Form HLA-B18: 19,2% gegenüber 8% in der Kontrolle). Das HLA-B 18 Allel war in dieser Untersuchung sowohl für die Akrosklerodermie mit 11,2% als auch für die ZS

mit 4,6% vorhanden, im Gegensatz zum völligen Fehlen in der Studie von Mehlhaff (75).

Für den DR-Locus ließ sich das vermehrte Auftreten der Allele HLA-DR 1, DR 2 und DR 5 bestätigen, wobei die Werte für HLA-DR 2 und DR 5 das statistische Signifikanzniveau erreichen. Da die HLA-DR 5 Erhöhungen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Gladmann und Black stehen, wird hier auf eine p-Korrektur verzichtet. HLA-DR 2 hält den verschärften Signifikanzkriterien nicht stand.

Zusätzlich konnte₂ in unserem Patientenkollektiv eine Frequenzminderung für HLA-DR 7 ($X = 3,8$) beobachtet werden, während die bei E.Mehlhaff auffällige Erniedrigung von HLA-DR 4 nicht zu sehen war. Die Untergruppen spiegeln im Wesentlichen das Verteilungsmuster der Gesamtgruppe wieder, mit der Ausnahme, daß für die Akrosklerodermie und die ZS eine HLA-DR 2 Verminderung zustande kommt. Dies könnte zu dem Schluß verleiten, HLA-DR 2 mit der Schwere der Erkrankung in Verbindung zu bringen, was aufgrund der geringen Fallzahlen in den Untergruppen und fehlender Signifikanz jedoch nicht zulässig ist.

Die Frequenzerniedrigung für HLA-DR 7 ist möglicherweise durch eine protektive Funktion dieses Antigens für Sklerodermie zu erklären, wie dies auch für Frequenzerniedrigungen einzelner Antigene bei anderen Erkrankungen angenommen wird. Die Beobachtung, daß die Akrosklerodermie und die ZS, zwei Verlaufsformen mit günstiger Prognose, eher eine HLA-DR 7 Erhöhung aufweisen, könnte diese Annahme unterstützen.

Der Grund für die zum Teil recht auffälligen Frequenzschwankungen zwischen Mehlhaffs' und meinem Patientenkollektiv ist wohl in der jeweils geringen Fallzahl der einzelnen Gruppen zu sehen, die es erschweren, aussagekräftige Schlußfolgerungen zu ziehen, die sich später reproduzieren lassen. (Weisen beispielsweise zwei neu dazukommende Patienten ein bestimmtes Merkmal auf, kann dies zu erheblichen Frequenzveränderungen bei kleinen Zahlen führen).

Nach der Entdeckung der Komplementgene C2 und C4 sowie des Bf Proteins in unmittelbarer Nachbarschaft der HLA-B und HLA-DR Genorte auf Chromosom Nr.6 (47,87,89), stellte sich auch die Frage nach der möglichen Bedeutung dieser Komplementfaktoren für die Krankheitsempfänglichkeit. Es wäre denkbar, daß einzelne defekte Komplementkomponenten ursächlich an der Pathogenese bestimmter Erkrankungen beteiligt sind. Ebenso könnten sie auch als zusätzliche Markergene Bedeutung gewinnen. Für den Faktor B, der als

Proaktivator für die Komplementkomponente C3 am Anfang des alternativen Aktivierungsweges' des Komplementsystems steht, konnte Bertrams in einer Studie anhand des Diabetes mellitus eine Korrelation mit dem Bf F₁ Allel nachweisen (18,67), die sich jedoch sekundär zu der bekannten Assoziation mit HLA-DR 3 und DR 4 verhält.

Im Rahmen dieser Arbeit interessierte im Bezug auf diese Erkenntnisse zunächst das Verteilungsmuster der Bf Frequenzen für die Sklerodermie.

Um die technische Durchführung der Experimente auf mögliche systematische Fehler zu überprüfen, wurden zuerst gemäß dem Hardy-Weinberg Gesetz die beobachteten und erwarteten Phänotypfrequenzen einander gegenübergestellt. Dabei ergab sich eine optimale Übereinstimmung, was zum Einen systematisch technische Fehler ausschließt, zum Anderen den genetischen Polymorphismus des Bf Systems mit dem genetischen Modell eines Genortes mit 4 Allelen S,F,S₁,F₁ bestätigt. Da auch kein Überschuß der homozygoten oder heterozygoten Genotypen zu beobachten war; läßt sich weder ein dominantes noch rezessives Vererbungsmodell für ein Bf gekoppeltes Krankheitsempfindlichkeitsgen ableiten.

Für die Gesamtgruppe der Sklerodermiepatienten ergab sich im Vergleich mit einer Münchener Kontrollpopulation für die einzelnen Bf Allele mit Bf S=81,6% gegenüber 80,5%, Bf F=16,8% gegenüber 18%, und Bf F₁=1,5% gegenüber 0,75% der Kontrolle ein nahezu identisches Verteilungsmuster. Das seltene Bf S₁ Allel war bei den untersuchten 101 Sklerodermiepatienten nicht vorhanden, was seinen Grund wohl in der geringen Fallzahl hat, da es in der Normalbevölkerung auch nur mit einer Frequenz von 0,75% auftritt. Die Tatsache, daß bereits in der Normalbevölkerung eine erhebliche Variabilität der Bf Antigenfrequenzen existiert, erschwert jedoch eine verbindliche Aussage bezüglich möglicher Frequenzverschiebungen. (z.B. liegen die Vergleichswerte in einer Untersuchung von G.Bonnländer(22) bei 69% für Bf S und 28,4% für Bf F.)

Nachdem bisher leider kein zusätzliches Datenmaterial über Bf Untersuchungen bei Sklerodermiepatienten veröffentlicht wurde, lassen sich die gefundenen Ergebnisse nicht weiter überprüfen.

Um mögliche Zusammenhänge in der Ausprägung des klinischen Erscheinungsbildes und bestimmten Bf Genotypen aufzuzeigen, wurden die nach klinischen und laborchemischen Merkmalen unterteilten Untergruppen auf ihr Bf Verteilungsmuster untersucht. Hier zeigen sich für die Gruppe der

Akrosklerodermie, der ZS und der proximal ascendierenden Sklerodermie mit Entzündung keine wesentlichen Unterschiede zur Gesamtgruppe. Für die Gruppe der proximal ascendierenden Sklerodermie ohne Entzündung ergab sich eine deutliche Frequenzerhöhung für Bf S mit 92%, und kompensatorisch eine Erniedrigung für Bf F mit 6%, die geringen Fallzahlen verhindern jedoch eine statistische Signifikanz. Auffallend war auch das alleinige Auftreten des Bf S Allels bei der Stammsklerodermie, doch auch hier ist bei nur 4 Patienten keine Aussage möglich. Zwischen dem entzündlichen und nicht entzündlichen Verlauf der Erkrankung findet sich keine Assoziation.

Für sich genommen ergeben die Befunde keinen Hinweis auf eine Assoziation der Bf Allele mit dem/den HLA gekoppelten Krankheitsempfänglichkeitsgenen für Sklerodermie. Auf der Suche nach neuen Informationen über die Lokalisation der Krankheitsempfänglichkeitsgene könnten Untersuchungen an anderen Komplementkomponenten wie C4 und C2 weiterführende Erkenntnisse erbringen.

Basierend auf der Überlegung, daß das volle Ausmaß der HLA gekoppelten Krankheitsempfänglichkeit möglicherweise durch das isolierte Betrachten der einzelnen HLA und Bf Frequenzen nicht erfaßt werden kann, wurden zusätzlich Zwei- und Drei-Punkt Analysen an HLA-Bf Haplotypen durchgeführt. Unter der Annahme, daß ein funktionelles Zusammenspiel einzelner Gene für die Krankheitsempfänglichkeit ausschlaggebend ist, müßte dies an einer Assoziation der Antigene untereinander erkennbar sein (88).

Für den HLA-DR Locus, der bisher wohl die stärksten Assoziationen mit der Sklerodermie aufweist, fanden sich in Verbindung mit den Bf Allelen signifikante Frequenzerhöhungen der Haplotypen HLA-DR5-Bf S ($\chi^2=7,9$) und HLA-DR1-Bf S ($\chi^2=5,2$), sowie eine Erniedrigung für HLA-DR7-Bf S ($\chi^2=4,0$). Nachdem Bf S mit 80% das häufigste Bf Allel darstellt, beruhen die Resultate ursächlich auf den bereits bekannten isolierten HLA-DR Antigenveränderungen.

Bei der Analyse der HLA-DR-Bf Haplotypen in den Untergruppen der Sklerodermie spiegelt sich im Wesentlichen das Verteilungsmuster der Gesamtgruppe wieder, mit einer HLA-DR1-Bf S und DR5-Bf S Erhöhung sowie einer HLA-DR7-Bf S Erniedrigung. Auffallend war das völlige Fehlen von HLA-DR7-Bf S trotz einer Fallzahl von 51 Patienten bei der proximal ascendierenden Sklerodermie, die meist einen schweren Verlauf nimmt, sowie die Vermehrung dieses Haplotypen bei der mit einer relativ günstigen Prognose

behafteten ZS. Dies könnte die Annahme einer protektiven Funktion für HLA-DR 7 stützen. Die Befunde lassen sich wiederum primär auf die Veränderungen im HLA-DR Genort zurückführen.

Aus der Gegenüberstellung der weiblichen und männlichen Patienten ist zu erkennen, daß die Frequenzerhöhungen für HLA-DRI-Bf S, DR2-Bf S und DR5-Bf S bei den Patientinnen deutlich ausgeprägter vorhanden sind. Somit werden diese Veränderungen in der Gesamtgruppe stärker von den weiblichen Patienten hereingetragen.

Insgesamt gesehen ergeben die Analysen in den Sklerodermie-Untergruppen leider keine weiteren Hinweise über Zusammenhänge zwischen HLA bzw. Bf Antigenen und klinisch unterschiedlichen Verlaufsformen der Sklerodermie.

Bei den HLA-B-Bf Haplotypen war HLA-B7-Bf S leicht überrepräsentiert. HLA-Bw62-Bf S trat dagegen vermindert auf gegenüber der Kontrollgruppe. Auch hier ist die Ursache primär in den Veränderungen im HLA-B Genort zu sehen.

Die Analyse der HLA-B-Bf-DR Drei-Punkt Assoziationen bei Sklerodermiepatienten ergab keine signifikanten Befunde.

Für die Interpretation der Ergebnisse darüber hinaus sind die Resultate von Studien über HLA-B-Bf Assoziationen in der gesunden Bevölkerung von großer Wichtigkeit (6,7,17). Darin konnte beispielsweise für HLA-B7-Bf S ebenfalls eine positive Korrelation festgestellt werden, womit die Ergebnisse relativiert werden. Ebenso wurde die enge Vergesellschaftung des HLA-B18 Allels mit Bf F₁ beschrieben, die sich auch an Sklerodermiepatienten nachweisen ließ. Als Grund für die Korrelation der HLA-B-Bf-DR Haplotypen ist mit großer Wahrscheinlichkeit ihre enge Nachbarschaft auf Chromosom Nr.6 anzunehmen, die das Phänomen des Kopplungsungleichgewichts begünstigt. Die Frage nach einem funktionellen Zusammenwirken der Gene im Prozeß der Krankheitsempfänglichkeit für Sklerodermie läßt sich anhand der gefundenen Resultate für HLA-B,Bf und DR Antigene nicht hinreichend beantworten.

Unter Berücksichtigung aller Befunde ist die Krankheitsassoziation bei der Sklerodermie primär mit dem HLA-DR Genort zu sehen. Dies wurde letztlich eindeutig mit Zahlenwerten in einer weiteren Untersuchung bewiesen, in der selektiv die jeweiligen HLA-DR positiven und negativen, sowie die Bf positiven und negativen Haplotypen herausgegriffen wurden. Darin zeigte sich, daß HLA-DRI, DR2 und DR5 unabhängig vom Vorhandensein von Bf S

gegenüber der Kontrolle vermehrt auftraten.

Im HLA-B Locus waren die Verhältnisse nicht eindeutig. Sowohl die HLA-Bw62 positiven Patienten, als auch die Bf S positiven Patienten waren gegenüber der Kontrolle vermehrt, wodurch sich keine primäre Assoziation festlegen läßt. Bei der Untersuchung des Haplotypen HLA-B7-Bf S zeigte sich gar eine geringfügig stärkere Assoziation zu Bf S. Dies liegt möglicherweise an der engen Nachbarschaft der HLA-B und Bf Genorte auf Chromosom Nr.6, die es erschwert, eine Assoziation als primär oder sekundär festzulegen. Insgesamt besteht die stärkste Korrelation mit den Allelen des HLA-DR Genortes.

Abschließende Betrachtung:

Die Bedeutung der MHC gekoppelten Gene in der Beurteilung der genetischen Disposition für Sklerodermie ist nach wie vor schwer zu erfassen. In mehreren Studien kristallisierten sich unterschiedliche Verknüpfungen mit Allelen der HLA-B und HLA-DR Genorte heraus (19,21,27,36,42,43,71), wobei sich die Assoziation zu HLA-DR1 ,2, und 5 in dieser Arbeit als am stärksten erwiesen. Zusätzlich scheint mit HLA-DR4 und DR7 ein protektiver Effekt vergesellschaftet zu sein. Wahrscheinlich sind mehrere HLA gekoppelte Gene am Prozeß der Krankheitsempfänglichkeit beteiligt. Die einzelnen Untergruppen der Sklerodermie ließen sich leider nicht anhand ihres HLA-Musters unterscheiden.

Auch für die Allele des Bf Systems ließ sich anhand unsere Ergebnisse kein Einfluß auf die genetische Disposition der Sklerodermie nachweisen. Mangels weiterer Vergleichsstudien konnte dies nicht weiter überprüft werden. Möglicherweise könnte eine Analyse der Komplementkomponenten C2 und C4 zur weiteren Aufklärung der Lokalisation der Empfänglichkeitsgene beitragen. .

Für die mögliche klinische Anwendung sowie zur Aufklärung der Pathogenese, genaueren Diagnosestellung oder Prophylaxe einzelner Krankheiten bedarf es jedoch weiterer Informationen bezüglich der Rolle der HLA-Antigene bei der Krankheitsempfänglichkeit. Hier könnten Untersuchungen des MHC auf molekularer Ebene zu einem besseren Verständnis führen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Assoziationen der Sklerodermie mit verschiedenen Allelen der HLA-B und HLA-DR Genorte, insbesondere HLA-DR 1, DR 2 und DR 5 konnten in einer vorausgehenden Dissertation bereits nachgewiesen werden (75). Angesichts dieser Befunde stellte sich die Frage, ob die eng mit dem HLA-DR Genort gekoppelten Komplementgene C2, C4 und Faktor B möglicherweise noch stärker mit den Sklerodermieempfindlichkeitsgenen verbunden sind, wodurch deren Lokalisation näher eingegrenzt werden könnte. Analoge Untersuchungen wurden schon an anderen, primär mit HLA-DR gekoppelten Erkrankungen durchgeführt (18,34,59,60,67). Zusätzliches Interesse an dieser Untersuchung wird durch die Hypothese geweckt, daß möglicherweise funktionelle Beziehungen zwischen Genen der HLA-D Region und eng gekoppelten Komplementkomponenten bestehen, die für den Ablauf der Immunantwort bedeutend sind.

Zunächst werden an einem erweiterten Patientengut von 146 Patienten die zuvor gefundenen HLA-B und DR Assoziationen überprüft. Anschließend wird das Verteilungsmuster der Bf Allele im Krankengut einer Kontrolle von 200 gesunden Münchner Testpersonen gegenübergestellt und ausgewertet. Schließlich soll anhand von Zwei- und Drei-Punkt Assoziationen der HLA-B, Bf und HLA-DR Allele die Frage nach einem möglichen Zusammenwirken mehrerer Gene beim Prozeß der Krankheitsentstehung geklärt werden. Zuletzt wurde noch eine Untersuchung zur Orientierung über die primäre Assoziation mit der Sklerodermie durchgeführt.

Der Bf-Testung wurden 101 Sklerodermiepatienten unterzogen, wobei die Diagnose nach klinischen Kriterien gestellt wurde. Dabei wurden die Patienten in Anlehnung an die Empfehlung der Arbeitsgemeinschaft Sklerodermie in vier Untergruppen eingeteilt, die sich nach klinischen und laborchemischen Merkmalen unterscheiden lassen. Die HLA-Typisierung erfolgte nach dem Mikrolymphozytotoxizitätstest nach Terasaki und McClelland. Die einzelnen Bf-Phänotypen wurden mit Hilfe der Dünnschicht- Agarosegel Elektrophorese mit anschließender Fixierung der Proteinbanden durch Inkubation mit Bf Antiserum dargestellt.

Beim Vergleich der HLA-B und DR Genfrequenzen mit den Ergebnissen von Mehlhaff ergaben sich kaum Unterschiede. Eine leichte HLA-B8 Erhöhung sowie eine signifikante Überrepräsentation der Allele HLA-DR1, 2, und 5

wurde auch in dieser Studie deutlich, gleichfalls fiel eine HLA-DR7 Verminderung auf, während die von Mehlhaff gefundene HLA-DR4 Erniedrigung nicht zu sehen war. Die Assoziation des HLA-B18 Antigens mit der entzündlichen Verlaufsform war nicht mehr signifikant. Für die Untergruppen zeigten sich keine Unterschiede, mit der Ausnahme, daß die ZS und die Akro-sklerodermie keine HLA-DR2 Abweichungen aufwiesen. Eine Schwierigkeit in der Beurteilung der Ergebnisse stellte die teilweise recht geringe Fallzahl dar. Die Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, daß wahrscheinlich mehrere HLA gekoppelte Gene am Prozeß der Krankheitsempfänglichkeit beteiligt sind.

Eine optimale Übereinstimmung der beobachteten Bf Phänotypen mit der gemäß dem Hardy-Weinberg Gesetz erwarteten Bf Verteilung spricht dafür, daß bei der Testung kein systematisch technischer Fehler unterlaufen ist. Zudem wird dadurch die Hypothese eines Bf Genortes mit mindestens 4 Allelen Bf S,F,S₁,F₁ bestätigt.

Die Häufigkeiten der einzelnen Bf Allele bei Sklerodermiepatienten wiesen keine Unterschiede zur Kontrollpopulation auf. In den Untergruppen war das alleinige Auftreten des Bf S Allels bei der Stammsklerodermie auffällig, ebenso eine Überrepräsentation dieses Allotypen bei der proximal ascendierenden Sklerodermie, was bei den kleinen Fallzahlen jedoch statistisch nicht signifikant wird. Leider liegen hierzu keine Vergleichsdaten aus anderen Untersuchungen vor. Die Beobachtung einer doch erheblichen Varianz der Bf Phänotypen in einzelnen deutschen Kontrollgruppen erschwert etwas die Aussage. Wahrscheinlich besteht jedoch keine Assoziation des Bf Systems zur Sklerodermie.

Bei den Assoziationsanalysen zeigte sich für die Sklerodermiepatienten eine Häufung der Haplotypen HLA-DR1-Bf S, DR5-Bf S, sowie eine Verminderung für HLA-DR7-Bf S. Diese Veränderungen sind jedoch in ursächlichem Zusammenhang mit den isolierten Frequenzverschiebungen für HLA-DR1, DR2, DR5 und DR7 zu sehen. Analog gilt diese Aussage auch für die HLA-B7-Bf S und HLA-Bw62-Bf S Assoziationen. Bei der Betrachtung der Untergruppen fällt das völlige Fehlen von HLA-DR7-Bf S bei der prognostisch ungünstigen proximal ascendierenden Sklerodermie, sowie eine Erhöhung dieses Haplotypen bei der relativ günstig verlaufenden ZS auf, was als Hinweis für eine protektive Funktion von HLA-DR7 gewertet werden könnte.

Wie vermutet zeigte die Orientierung über die primäre Assoziation der Sklerodermie, daß HLA-DR1, DR2 und DR5 am stärksten mit der Krankheit korre-

liert sind. Für den HLA-B Genort waren die Ergebnisse nicht eindeutig zu interpretieren, was wohl an der geringen räumlichen Distanz der HLA-B und Bf Genorte liegt.

Faßt man die Ergebnisse dieser Arbeit zusammen, ergaben die Untersuchungen des Bf Systems bei Sklerodermie leider keinen Anhalt für eine Kopplung einzelner Bf Allele mit den Krankheitsempfänglichkeitsgenen.

Um den Prozeß der Krankheitsempfänglichkeit besser verstehen zu können, bedarf es weiterer Erkenntnisse über den Ablauf und die Steuerung des Immunsystems.

Tabelle I:

Beobachtete und erwartete Verteilung der Bf-Phänotypen unter Anwendung des Hardy-Weinberg Gesetzes bei 101 Sklerodermiepatienten

Phänotyp	Genotyp	beobachtet	erwartet nach dem Hardy-Weinberg Gesetz		chi ²
S	S S	69	67,4		0,04
F	F F	4	2,85		0,46
FS	F S	25	27,7		0,26
FF ₁	F F ₁	1	0,5		
SF ₁	S F ₁	2	2,5	3,05	0,001
F ₁	F ₁ F ₁	-	0,05		
		101	101		0,761

Tabelle II:

Ausgezählte Bf-Genfrequenzen von 101 Sklerodermiepatienten im Vergleich mit einer Münchner Kontrollpopulation

Sklerodermiepatienten (N=202 Haplotypen)		Kontrolle (N=200 Haplotypen)
Bf S	81,7 %	80,5 %
Bf F	16,8 %	18,0 %
Bf F ₁	1,5 %	0,75 %

Tabelle III:

Bf-Genfrequenzen in Sklerodermie-Untergruppen im Vergleich zu einer Kontrollpopulation

	AKrosklerod.		prox. ascend. Skl. mit Entzündung		prox. ascend. Skl. ohne Entzündung		Stammsklerod.		Kontrolle	
	N=28		N=36		N=18		N=4		N=100	
Bf S	78,6%		79,2%		91,7%		100%		80,5%	
Bf F	17,9%		20,8%		5,6%		-		18,0%	
Bf F ₁	3,6%		-		2,8%		-		0,75%	

	Zirkumskripte Skl.		entzündl. Form		nicht entzündl. Form		Männer		Frauen		Kontrolle	
	N= 15		N= 40		N= 61		N= 34		N= 71		N= 100	
Bf S	76,7%		81,3%		82,0%		75,0%		84,5%		80,5%	
Bf F	23,3%		18,8%		15,6%		21,7%		14,8%		18,0%	
Bf F ₁	-		-		2,5%		3,3%		0,7%		0,75%	

Tabelle IV:

Vergleich der HLA-B Genfrequenzen von 139 Sklerodermiepatienten mit einer Kontrollpopulation

HLA-Antigene	Sklerodermiepatienten N=139 (gez.Haplotyp. Genfr. pro 278)	Kontrolle N=100	chi ²	
HLA-B				
7	(35,4)	12,7%	8,8%	1,8
8	(35,4)	12,7%	8,2%	2,6
13	(7,0)	2,5%	2,8%	-
14	(6,0)	2,2%	3,0%	-
18	(17,7)	6,4%	5,8%	-
27	(12,7)	4,8%	3,9%	-
w35	(33,7)	12,1%	9,5%	-
37	(5,0)	1,8%	1,5%	-
w38	(4,5)	1,6%	2,5%	-
w39	(4,5)	1,6%	2,1%	-
w44	(28,8)	10,4%	11,0%	-
w45	(1,0)	0,4%	1,1%	-
w47	(2,0)	0,7%	0,4%	-
w49	(5,0)	1,8%	2,3%	-
w50	(3,0)	1,1%	1,2%	-
w51	(15,0)	5,4%	7,2%	-
w52	-	-	-	-
w53	(1,0)	0,4%	0,3%	-
w54	-	-	-	-
w55	(4,0)	1,4%	2,2%	-
w56	(2,0)	0,7%	0,6%	-
w57	(6,0)	2,2%	3,1%	-
w58	(3,0)	1,1%	1,1%	-
w60	(14,0)	5,1%	3,4%	-
w61	-	-	-	-
w62	(11,0)	4,0%	5,3%	-
w63	(1,0)	0,4%	0,5%	-
X	(2,9)	1,0%	6,1%	5,3

Tabelle IVa:

Selektive Darstellung der HLA-B 8 und HLA-B 18 Phänotyp-
frequenzen in Sklerodermie-Untergruppen

	Akrosklerod. N=37		prox.azend.Skl. N=74		Stammskl. N=6		Kontrolle N=100
B 8	8	21,6%	18	24%	3	50%	15,7%
B18	4	11,1%	10	12%	3	50%	11,2%

	Zirkumskr. Skl. N=22		entzündl. Form N=52		Kontrolle N=100	
B 8	3	13,6%	16	30,8%		15,7%
B18	1	4,5%	10	19,2%		11,2%

	nicht entzündl.Form N=87		Männer N=37	Frauen N=102	Kontrolle N=100	
B 8	16	18,4%	14	37,8%	18	17,6%
B18	7	8,0%	5	13,5%	12	11,8%

Tabelle V:

Vergleich der HLA-DR Genfrequenzen bei 146 Sklerodermiepatienten mit einer Kontrolle

HLA-Antigene		Sklerodermiepatienten N=146	Kontrolle N=100	chi ²	
		(gezählt. Haplo- Genfr. typ. pro 292)	Genfr.		
HLA-DR	1	(36,0)	12,3%	6,8%	3,8
	2	(58,8)	20,1%	13,3%	4,4
	3	(39,7)	13,6%	10,7%	1,1
	4	(27,0)	9,3%	9,5%	0,1
	5	(60,9)	20,8%	10,3%	11,4
	w6	(10,5)	3,6%	6,5%	0,5
	7	(23,2)	8,0%	12,5%	3,8
	w8	(1,0)	0,3%	2,7%	7,1
	w9	(1,0)	0,3%	1,2%	2,7
	X	(34,3)	11,8%	29,9%	11,1

Tabelle Va: Selektive Darstellung der HLA-DR 1,2 und 5 Genfrequenzen in Sklerodermie-Untergruppen

	Akrosklerod. N=26	Prox.asz.Skl. N=51	Zirkumskr.Skl. N=14	Kontrolle N=100
DR 1	10,94%	17,2%	14,29%	6,8%
DR 2	12,2 %	22,96%	13,86%	13,3%
DR 5	23,84%	21,01%	20,11%	10,3%

	entzündl.Form N=37	nicht entzündl.Form N=44	Kontrolle N=100
DR 1	18,06%	11,04%	6,8%
DR 2	20,19%	19,69%	13,3%
DR 5	21,33%	22,67%	10,3%

	Männer N=28	Frauen N=67	Kontrolle N=100
DR 1	8,93%	16,56%	6,8%
DR 2	14,85%	20,83%	13,3%
DR 5	18,45%	23,11%	10,3%

Tabelle VI:

HLA-DH-Bf Haplotypfrequenzen von 95 Sklerodermiepatienten im Vergleich mit einer Kontrolle
angegeben als Anzahl pro 100

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf											
S	12,08 (5,01)	18,23 (12,51)	9,06 (9,29)	7,35 (9,40)	19,25 (8,70)	3,16 (1,45)	2,27 (5,78)	0,08 (2,97)	0,53 (0,9)	9,06 (20,0)	81,07 (76,25)
$\chi^2=$	5,2	1,9	0,06	0,8	7,9	0,6	4,0	-	-	-	-
F	2,16 (1,50)	0,92 (1,09)	1,22 (0,41)	2,95 (1,56)	2,07 (0,80)	1,26 (0,51)	2,70 (5,48)	0,44 (0,49)	- (0,64)	3,63 (7,00)	17,35 (20,19)
$\chi^2=$	0,09	0,47	0,09	0,32	0,37	0,06	2,65	-	-	-	-
F ₁			1,11 (0,59)	0,13 (0,03)	0,34 (0,10)						1,58 (0,84)
Summe	14,24	19,15	11,39	10,43	21,66	4,42	4,97	0,52	0,53	12,69	100,00

Werte in Klammern aus: Joint report, Reference Tables of Two and Three-Locus-Haplotype Frequencies
For HLA-A, E, C, DR, Bf, p 1003, in Histocompatibility Testing 1980

Tabelle VIa-g:

HLA-DR-Bf Haplotypfrequenzen in Sklerodermie-Untergruppen

a) Akrosklerodermie N=26

	DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	x	Summe
Bf												
S		9,63	11,28	15,19	5,78	22,99	0,96	1,92	0,23	-	8,99	76,95
		(5,01)	(12,51)	(9,29)	(9,40)	(8,70)	(1,45)	(5,78)	(2,97)	(0,9)	(20,0)	(76,25)
		$\chi^2=0,3$				3,0		2,3				
F		1,31	0,92	0,46	9,74	0,08	0,96	1,92	1,69	-	2,12	19,2
					(1,56)							
					$\chi^2=1,9$							
F ₁				2,83	0,23	0,79						3,85
Summe		10,94	12,20	18,48	15,75	23,84	1,92	3,84	1,92		11,11	100,00

Werte in Klammern aus: Joint report, Reference Tables of Two and Three-Locus-Haplotype Frequencies For HLA-A,B,C,DR,Bf p 1003, in Histocompatibility Testing 1980

Tabelle VIb: proximal ascendierende Sklerodermie - HLA-DR-Bf Haplotypfrequenz N=51

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf S	14,0	22,1	9,53	5,48	18,5	5,25			0,98	7,53	83,36
	(5,01)	(12,51)	(9,29)	(9,40)	(8,70)	(1,45)			(0,90)	(20,00)	76,25
	$\chi^2 = 3,7$	2,58			3,29						
F	3,2	0,85	2,09	0,39	2,26	1,05	2,49			3,34	15,67
					(0,80)						
					$\chi^2 = 0,07$						
F ₁			0,72		0,25						
Summe	17,2	22,96	12,34	5,87	21,01	6,30	2,49		0,98	10,87	100,00

Vlc): Zirkumskripte Sklerodermie! - HLA-DR-Bf Haplotypfrequenz, N=14

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf S	9,68	12,11	-	22,25	12,04	1,64	11,17	-	-	6,10	75,00
	(5,01)	(12,51)		(9,40)	(8,70)	(1,45)	(5,78)			(20,00)	76,25
				$\chi^2 = 0,9$			0,06				
F	4,61	1,75	-	0,75	8,07	2,54	3,11	-	-	4,17	25,00
					(0,80)						
					$\chi^2 = 0,5$						
Summe	14,29	13,86		23,00	20,11	4,18	14,28			10,27	100,00

werte in klammern aus: joint Report, Reference Tables, siehe Tabelle VI

Tabelle VI d: Männer - HLA-DR-Bf Haplotypfrequenzen, N=28

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf S	6,39 (5,01)	14,05 (12,51)	10,21 (9,29)	10,14 (9,40)	16,84 (8,70)	2,82 (1,45)	2,27 (5,78)	-	-	11,32 (20,00)	74,04 (76,25)
	chi ² =2,29										
F	2,54	0,80	4,24	2,34	1,16	0,75	7,92			2,64	22,39
F ₁			2,29	0,84	0,45						3,57
Summe	8,93	14,85	16,74	13,32	18,45	3,57	10,19			13,96	100,00

VI e: Frauen - HLA-DR-Bf Haplotypfrequenzen, N=67

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf S	14,37 (5,01)	19,68 (12,51)	8,74 (9,29)	6,60 (9,40)	20,51 (8,70)	3,39 (1,45)	2,24 (5,78)	0,03 (2,97)	0,75 (0,9)	8,01 (20,00)	84,32 (76,25)
	$\chi^2=5,7$										
F	2,19	1,15	0,03	2,65	2,28	1,43	0,75	0,72	-	3,74	14,93
F ₁			0,51		0,32						0,75
Summe	16,56	20,83	9,28	9,25	23,11	4,82	2,99	0,75	0,75	11,75	100,00

Werte in Klammern aus: Joint Report, Reference Tables of Two and Three-Locus Haplotype Frequencies For HLA-A, B, C, DR, Bf, p 1003, in Histocompatibility Testing, 1980

Tabelle VI: entzündliche Form - HLA-DR-Bf Haplotypfrequenzen , N=37

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf S	14,54 (5,01)	19,43 (12,51)	9,68 (9,29)	4,86 (9,40)	18,22 (8,70)	4,31 (1,45)	1,35 (5,78)	-	-	8,63 (20,00)	81,02 (76,25)
	$\chi^2=2,8$										
F	3,52	0,76	2,92	0,54	3,11	1,50	3,43	-	-	3,20	18,98
Summe	18,06	20,19	12,60	5,40	21,33	5,81	4,78			11,83	100,00

VIg: nicht entzündliche Form - HLA-DR-Bf Haplotypen, N=44

DR	1	2	3	4	5	w6	7	w8	w9	X	Summe
Bf S	9,73 (5,01)	18,77 (12,51)	11,31 (9,29)	5,25 (9,40)	22,01 (8,70)	3,14 (1,45)	1,14 (5,78)	0,10 (2,97)	1,14 (0,90)	10,36 (20,00)	82,95 (76,25)
	chi ² =0,8										
F	1,31	0,92	0,19	5,99 (1,56)	0,04	0,26	1,14	1,03	-	2,75	13,63
	chi ² =1,28										
F ₁			2,71	0,09	0,62						3,42
Summe	11,04	19,69	14,21	11,33	22,67	3,40	2,28	1,13	1,14	13,11	100,00

Werte in Klammern aus: Joint Report, Reference Tables of Two and Three-Locus Haplo type Frequencies For HLA-A,B,C,DR,Bf, p 1003, in Histocompatibility Testing , 1980

Tabelle VII:

HLA-B-Bf Haplotypfrequenzen von 96 Sklerodermiepatienten im Vergleich mit einer Kontrollpopulation, angegeben als Anzahl pro 100

B	5	w51	7	8	12	w44	13	14	w62	w63	Summe
Bf S	2,66	2,58	12,44 (8,16)	10,05	0,52	7,48	2,33	1,35	0,99 (4,96)	0,10	40,5
F	0,47	0,32	0,32	1,77	-	1,79	0,80	0,21	2,65 $\chi^2=6,68$	0,42	8,75
F ₁	0,20										0,20
Summe	3,33	2,90	14,19	11,82	0,52	9,27	3,13	1,56	3,64	0,52	49,45
B	w16	w38	w39	17	w57	18	w49	w50	w22	w55	
Bf S	1,23	1,04	0,75	1,56	1,04	5,02	2,08	0,52	2,71	0,52	16,47
F	0,33	-	0,29	0,52	-	0,34	-	0,52	0,19	-	2,19
F ₁					1,23						1,23
Summe	1,56	1,04	1,04	2,08	1,04	6,59	2,08	1,04	2,90	0,52	19,89
B	w56	27	w35	37	w60	w41	w47	X			
S	0,11	4,04	10,81	0,75	3,51	0,52	0,52	3,54			23,80
F	0,41	0,49	2,47	0,81	2,18	-	-	0,38			6,74
F ₁			0,06					0,06			0,12
Summe	0,52	4,53	13,34	1,56	5,69	0,52	0,52	3,98			30,66

Werte in Klammern aus: Joint Report, Reference Tables, siehe Tabelle VI

100,00

Tabelle VIII:

HLA-B-Bf-DR Haplotypfrequenzen von 86 Sklerodermiepatienten im Vergleich mit einer Kontrolle, angegeben als Anzahl pro 100

Bf S-B	5	w51	7	8	12	w44	13	14	w62	w63	w16	w38
DR 1		0,55	0,73	0,74		0,1		0,60	0,22		0,03	0,13
2		0,59	7,32	1,16 (0,16)		2,04	0,04		0,01		0,87	
3			0,70	6,42		0,02			0,0001	0,01		
4	0,006		2,22	1,04		0,90	0,05	0,001	0,05			0,02
5	1,33	1,17	0,72 (0,05)	0,26	0,06	3,36 (0,87) chi=1,4	0,001	0,07			0,49	
w6	0,04	0,40		0,36		0,57			0,03			
7	0,001	0,006				0,28	0,60	0,01				
w8				0,006					0,01			
w9												
X		0,34	2,14	1,46		0,17	1,46		0,60	0,006	0,40	1,05
Summe	1,377	3,056	13,83	11,446	0,06	7,44	2,151	0,681	0,921	0,016	1,79	1,20

Werte in Klammern aus: Joint Report, Reference Tables, pp1063 Siehe Tabelle VI

Fortsetzung Tabelle VIII, HLA-B-Bf-DR Haplotypfrequenzen von 86 Sklerodermiepatienten

Bf S-B	w39	17	w57	18	w49	w22	w55	w56	27	w35	37	w60	w41
DR 1	0,31		0,22	0,08		1,17			1,63	3,53		0,46	
2	0,58	0,06		0,91	0,07	0,04				(1,54) $\chi^2=0,65$			
3		0,59		0,35	0,006				0,02	0,95		0,80	
4				0,59		0,19	0,18	0,09	0,58	0,01		0,02	0,46
5		0,52	0,006	3,21 (1,19) $\chi^2=0,7$	0,87	0,42			0,49	0,36		1,06	
w6				0,002					0,41	2,13	0,002	0,52	0,14
7	0,19		0,70							0,60	0,60	0,02	
w8													
w9			0,39										
X	0,02	0,01		0,96	0,54		0,43	0,10	1,14	1,75	0,001	2,01	
Summe	1,10	1,18	1,226	6,102	1,816	1,82	0,61	0,19	4,49	9,33	0,603	4,89	0,60

Werte in Klammern aus: Joint Report, Reference Tables pp 1063 siehe Tabelle VII

Fortsetzung Tabelle VIII, HLA-B-Bf-DR Haplotypfrequenzen von 86 Sklerodermiepatienten

Bf S-B	w47	X	Summe
DR 1		0,67	11,17
2	0,52	0,20	16,18
3		0,006	9,17
4			7,25
5		0,25	15,94
w6		0,006	2,63
7			2,12
w8			0,02
w9			0,61
X	0,08		14,67
Summe	0,60	1,132	79,76

Bf F ₁ -B	18	w35	w51	X	Summe
DR 3	1,6	0,07	0,01	0,01	1,69
4	0,02	-	0,01	-	0,03
5	0,02	0,01	-	0,01	0,04
Summe	1,64	0,08	0,02	0,02	1,76

Fortsetzung Tabelle VIII, HLA-B-Bf-DR Haplotypfrequenzen von 86 Sklerodermiepatienten

Bf F-B	5	7	8	w44	13	14	w62	w63	w16	w39	17	18
DR 1			0,04	0,05			0,55			0,13		
2		0,16	0,006	0,12			0,09		0,01			
3			0,67	0,01			0,006	0,31				
4			0,22	0,30	0,24		0,65					
5	0,006		0,30	0,01		0,002			0,001			0,02
w6	0,42		0,27	1,03			0,05					
7			0,01	0,66	0,59	0,52	0,47			0,1	0,15	
w8			0,0001				0,58					
w9												
X		0,43	0,006	0,05	0,13		0,89	0,27			0,45	0,006
Summe	0,426	0,59	1,5221	2,23	0,96	0,522	3,286	0,58	0,011	0,23	0,60	0,026

Fortsetzung Tabelle VIII, HLA-B-Bf-DR Haplotypfrequenzen von 86 Sklerodermiepatienten

Bf F-B	w50	w22	w56	27	w35	37	w60	X	Summe
DR 1				0,02	1,86 (0,81, 0,0001		0,82		3,47
2		0,50					0,01	0,02	0,92
3								0,006	1,00
4			0,23		0,11		0,50		2,25
5	0,43	0,09			0,12	0,24	0,07		1,29
w6					0,13		0,06	0,27	2,23
7					0,31		0,13		2,94
w8									0,58
w9									-
X	0,12		0,19	0,007	0,76	0,64	0,05		4,00
Summe	0,55	0,59	0,42	0,027	3,29	0,88	1,64	0,296	18,68

werte in Klammern aus : Joint Report, Reference Tables pp1063, siehe Tabelle VII

Tabellen zur Orientierung über die primäre Assoziation mit der Sklerodermie

Tabelle IX: Frequenz der Haplotypen

	Sklerodermie-Patienten (N=190 Haplotypen)		Kontrolle (N=100)	chi ²
DR1+/Bf S+	12,1%	(22,94)	5,0%	5,2
DR1+/Bf S-	2,2%	(4,1)	1,6%	n.s.
DR1-/Bf S+	69,0%	(131,1)	71,2%	n.s.
DR2+/Bf S+	18,2%	(34,6)	12,5%	1,9
DR2+/Bf S-	0,9%	(1,74)	1,2%	n.s.
DR2-/Bf S+	62,8%	(119,4)	63,7%	n.s.
DR5+/Bf S+	19,3%	(36,6)	8,7%	7,9
DR5+/Bf S-	2,4%	(4,59)	0,9%	n.s.
DR5-/Bf S+	61,8%	(117,5)	67,6%	n.s.
DR7+/Bf S+	2,3%	(4,31)	5,8%	4,0
DR7+/Bf S-	2,7%	(5,12)	6,2%	n.s.
DR7-/Bf S+	78,8%	(149,7)	70,5%	n.s.
B 7+/Bf S+	12,3%	(23,88)	8,6%	1,8
B 7+/Bf S-	0,3%	(0,62)	0,6%	n.s.
B 7-/Bf S+	68,7%	(133,1)	68,1%	n.s.
Bw62+/Bf S+	1,0%	(1,91)	5,0%	6,8
Bw62+/Bf S-	2,6%	(5,09)	2,3%	n.s.
Bw62-/Bf S+	80,0%	(155,1)	71,5%	n.s.

Kontrollwerte aus: Joint Report, Reference Tables p 1003
siehe auch Tabelle VII

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ackermann, A.B.
Histologic diagnosis of inflammatory skin disease
London, 285-287, 1936
2. Albert, E.D.
The Major Histocompatibility Complex (MHC) in Man
Clinics in Rheumatic Diseases, Vol.3, No.2, August 1977
3. Albert, E.D., Scholz, S.
The Biology of the Major Histocompatibility Complex in Man
Behring Inst. Mitt., No.62, 21-52 (1978)
4. Albert, E.D., Scholz, S.
Das Haupthistokompatibilitätssystem (HLA) des Menschen:
Serologie, Genetik und klinische Bedeutung
Immunforschung in Klinik und Labor, Fresenius-Stiftung,
77-105, 1979
5. Albert, E.D.
Neue Antigene des HLA-Systems in Klinik und Forschung
Klin. Wschr. 51 (15), 788, 1973
6. Albert, E.D., Mickey, M.R., Ting, A., Terasaki, P.I.
Deduction of 2140 HL-A haplotypes and segregation analysis in 535 families
Transplant. Proc. 5, No.1, 215 (1973)
7. Albert, E.D., Rittner, Ch., Scholz, S., Kuntz, B., Mickey, M.R.
Three-Point Association of HLA-A,B,Bf Haplotypes
Deduced in 200 Parents of 100 Families
Scan. J. Immunol., Vol.6, 1977
8. Albert, E.D., Scholz, S.,
Das HLA-System: Genetische Organisation und physiologische Bedeutung
Rheuma Forum 10, 10-24, 1980

9. Albert, E.D., Rittner, Ch., Grosse-Wilde, B., Netzel, B., Scholz, S.
Recombination Frequency and Linkage Disequilibrium
between HL-A and Bf
Histocompatibility Testing 1975, 941-944, Munksgaard
Copenhagen, Denmark
10. Albert, E.D., Scholz, S.
The Significance of HLA-Disease Assoziations in
Rheumatology
Clinical Immunology and Allergology, 129-135, 1981
11. Alper, C.A., Boenisch, T., Watson, L.
Glycine-rich β_2 glycoprotein (GBG): Evidence for relation
to the complement system and for genetic polymorphism in man
J. Immunol. 107, 323 (1971) , Abstract
12. Asboe-Hansen, G.
Neue Entwicklungen der Pathologie, Pathophysiologie
und Therapie der systemischen Sklerodermie
Der Hautarzt 31, 584-587, 1980
13. Barnett, A.J.
Scleroderma
Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, USA, 1974
14. Baron, M., Keystone, E.C., Gladman, D.D., Lee, P., Poplonski, L.
Lymphocyte subpopulations and reactivity to mitogens
in patients with scleroderma
Clin. exp. Immunol. (1981), 46, 70-76
15. Barthelms, M.
Das Verhalten der antinukleären Faktoren bei der
Sklerodermie
Derm. Mschr., 161, 536-544, 1975

16. Bertrams, J.
HLA and Disease Assoziation
Behring Inst. Mitt. No. 62, 69-92, 1978
17. Bertrams, J., Baur, M.P.
HLA-A-B-Bf Three-Point Assoziation of 1072 Haplotypes
in a German Population
Tissue Antigens Vol. 14, No.4, 317-324, October 1979
18. Bertrams, J., Baur, M.P., Grünekle, F.A., Gries, D.
Bf in early onset insulin-dependent diabetes
Lancett II: 1240 (1979)
19. Birnbaum, N.S., Rodnan, G.P., Rabin, B.S., Bassion, S.
Histocompatibility Antigens in Progressive Systemic
Sclerosis (Scleroderma)
J. Rheumatol. 4, 425-428, 1977
20. Black, C.M., Batchelor, J.R., Welsh, K., Hughes, G.R.V.
A comparism of the HLA antigens in SLE and systemic
sclerosis
Heberden Social Annual Lecture, Nov.1981, abstr. p.26
21. Black, C.M., Maddison, P.J., Jayson, M.V.I., Batchelor, J.R.,
Welsh, K.I., Bernstein, R.M., Catoggio, L.J., Holland, C.D.
HLA antigens and scleroderma
Heberden Social Annual Lecture, Nov.1981, abstr. p. 34
22. Bonnländer, G.
Immunogenetische Untersuchungen bei der Zöliakie
Inaugural-Dissertation 1983
23. Brautbar, C., Yehuda, O., Eisenberg, S., Cohen, N., Amar, A.,
Sharon, R., Fried, K.
Study of a family with cerebro tendinous xanthomatosis
No HLA Linkage, but informative recombination between
HLA-B and Bf
Tissue Antigens, 1983, 21, 233-237

24. Brenke,A., Barthelms,H., Albrecht-Nebe,H., Dietzel,W.,
Sönnichsen,N.
Immunologische Befunde bei der progressiven Sklerodermie--
diagnostische und nosologische Bedeutung
Derm. Mschr. 169, 385-393, 1983
25. Chandy,A.J., Le Petit,J.C., Barthelmy,H., Garcier,F.
T-Cell Imbalance in progressive systemic sclerosis
defined by monoclonal antibodies
Arch. dermat. Res.274, 189-192
26. Chanda,J., Callen,J.P.
Differential Diagnosis of Sclerodermoid Skin Disease
Cutis, Vol.21, 843-847, 1978
27. Clements,P.J., Opelz,G., Terasaki,P.I., Mickey,M.R.,
Furst,D.
Assoziation of HLA-Antigen A9 with progressive Systemic
Sclerosis (Scleroderma)
Tissue Antigens Vol. 11, No. 4, 357-361, April 1978
28. Connolly, S.M., Winkelmann,R.K.
Direct Immunofluorescent Findings in Scleroderma Syndromes
Acta Dermatovener 61: 29-36, 1981
29. Cunningham,P.M., Andrews,B.S., Davis,J.S.
Scleroderma: developments from Osler to the present
South. Med. J. 73 (6) 770-774, 1980
30. Dausset,J., Degos,L., Hors,J.
The Assoziation of the HLA-Antigens with Diseases
Clin. Immunol. and Immunopathol. 3, 127-149, 1974
31. Dausset,J., Svejgaard,A.
HLA and Disease
Munksgaard, Copenhagen 1977
32. Dausset,J.,
Iso-Leuco Anticorps
Acta haemat. (Basel) 20, 156-166, 1958

33. Doherty, P.C., Götze, D., Trinchieri, G., Zinkernagel, R.M.
Models for recognition of virally modified cells by
immune thymusderived lymphocytes
Immunogenetics 3, 517-524, 1976

34. Dyer, P.A., Klanda, P.T., Harris, J., Mallich, N.T.
Properdin Factor B alleles in patients with idiopathic
membranous nephropathy
Tissue Antigens 15, 505-507, 1980

35. Eisen, A.Z., Uitto, J.J., Bauer, E.A.
Scleroderma
Dermatology in general medicine, chapter 128, 1305-1313

36. Ercilla, M.G., Arriaga, F., Gratacos, M.R., Coll, J.,
Lecha, V., Vives, J., Castillo, R.
HLA Antigens and Scleroderma
Arch. Dermatol. Res. 271, 381-385, 1981

37. Festenstein, H., Nyulassy, S.
Workshop on HLA and Disease
Transplant. Proc. XI (1) March 1979

38. Freudenberg, J., Holzmann, H., Schneider, S., Korting, G.W.
HLA-Antigenfrequenzen bei Patienten mit progressiver
Sklerodermie und Morphaea
Arch Dermatol. Res. 263, 197-205 (1978)

39. Fritz, J., Sandhofer, M.
Zelluläre Immunphänomene bei der Sklerodermie
Dermatologica 154, 129-137, 1977

40. Fritzler, M.J., Kinsella, T.D.
The CREST syndrome: a distinct serologic entity with
anticentromere antibodies
Am. J. Med. 69 (4), 520-526, Oct. 1980

41. Geserick, G., Patzelt, D., Schröder, H.
Zum Nachweis von Subtypen des Bf Systems: Verteilung
in einer Stichprobe der Berliner Bevölkerung (DDR)
Biomed. Biochem. Acta 42; (1983) 5, 581-585
42. Giordano, M., Magri, D., Valentini, G., Tirri, G., De Biasi, R.
HLA SD Antigens in progressive Systemic Sclerosis (letter)
Arch. Dermatol. Res. 266, 213, 1979
43. Gladman, D.D., Keystone, E.C., Baron, M., Lee, P., Cane, D.,
Mervort, H.
Increased frequency of HLA-DR 5 in Scleroderma
Arthritis and Rheumatism 24, (6), 854-856, 1981
44. Götze, O., Müller-Eberhard, H.J.
The C₃ activator system. An alternate pathway of
complement activation
J. exp. Med. 134, 89-95, 1971
45. Grange, D., Tongio, M.M., Mayer, S., Hauptmann, G., Klein, J.
Haplotype Study. Linkage between HLA-A, B, C and Bf alleles:
Results obtained by different statistical methods
Tissue Antigens 18, 166-177, 1981
46. Gray, R.G., Altmann, R.D.,
Progressive systemic sclerosis in a family. Case report
of a mother and son and review of the literature
Arthritis and Rheumat. Vol. 20 (1), 35-41, 1977
47. Hauptmann, G., Tongio, M.M., Mayer, S., Dausset, J.
The localisation of the Bf locus within the MHS region
on Chromosome No. 6
Tissue Antigens 7, 52-54, 1976
48. Hermann, K., Didt, L., Haunstein, U.F.
β-Galaktosidase Aktivität im Serum bei progressiver
Sklerodermie
Derm. Mschr. 167, 91-95, 1982

49. Holt, P.J.A., Darke, C.
HLA antigens and Bf allotypes in lichen sclerosus et atrophicus
Tissue Antigens Vol.22, No.1, 89-91, July 1983
50. van Hooff, J.P.
HLA and Other Important Factors in Renal Allograft Survival
Behring Inst. Mitt. No.62, 53-68, (1978)
51. Hopf, H.C.
Progressive systematisierte Sklerodermie (PSS)
Ver. deutsch. ges. Inn. Med. 83, 1781-1785, April 1977
52. Hornstein, O.P.
Sklerodermien
Therapiewoche 30, 4548-4560, (1980)
53. Horwitz, D.A., Juul-Nielsen, K.
Human blood L lymphocytes in patients with active systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and scleroderma: a comparison with T and B cells
Clin. exp. Immunol. (1977) 30, 370-378
54. Hughes, P., Gelsthorpe, K., Doughty, R.W., Rowell, N.R., Rosenthal, F.D., Sneddon, I.B.
The association of HLA-B 8 with visceral disease in systemic sclerosis
Clin. exp. Immunol. 31, 351-356, 1978
55. Jablonska, S.
Scleroderma and pseudoscleroderma
Polish Med. Publishers Warsaw, 191-229, 1976
56. Jakobza, D.
Zum immunologischen Verhalten der progressiven Sklerodermie
Derm. Mschr. 162, 909-911, 1976

57. Joint Report from the Sixth International Histocompatibility Workshop Conference. II. Typing for HLA-D (LD-I or MLC) determinants
Histocompatibility Testing 1976, 414-458,
Munksgaard, Copenhagen 1976

58. Joint Report; Reference Tables of Two and Three-Locus-Haplotype Frequencies for HLA-A,B,C,DR,Bf and GLO
Baur,M.P., and Danilovs J.A. pp 1003; 1063
in: Terasaki,I.P., Histocompatibility Testing 1980,
Report of the Eighth International Histocompatibility Workshop Held in Los Angeles, California, USA (1980)

59. Kirk,R.L., Ranford,P.R., Viswanathan,M., Mohan,V.,
Ramachandran,A., Snahalatha,C., Munirathnam Chetty,S.M.,
John,L.
Another association between the properdin system (Bf) and
insulin-dependent diabetes in south India
Tissue Antigens Vol.20, No.2, 170-172, 1982

60. Kirk,R.L., Ranford,P.R., Theophilus,J., Ahuja,H.M.S.,
Mehra,N.K., Vaidya,M.C.
The rare factor S1 of the properdin system strongly
associated with insulin-dependent diabetes in north India
Tissue Antigens Vol.20, No.4, 303-304, 1982

61. Kissmeyer-Nielsen,F., Staub-Nielsen,L., Sandberg,L.,
Svejgaard,A., Thorsby,E.
The HL-A System in relation to human transplantations
Histocompatibility Testing 1970, 105-135,Munksgaard,
Copenhagen 1970

62. Kleinsmith,A.M., Heinzerling, R.H., Burnham,T.K.
Antinuclear Antibodies as Immunologic Markers for a
Benign Subset and Different Clinical Characteristics
of Scleroderma
Arch. Dermatol. Vol.118, 882-885, 1982

63. Krakauer, R.S., Sundeen, J., Sauder, D.N., Scherbel, A.
Abnormalities of Immunoregulation in Progressive
Systemic Sclerosis
Arch. Dermatol. Vol. 117, 80-82, 1981
64. Krieg, T., Luderschmidt, Ch., Weber, L., Müller, P.,
Braun-Falco, O.
Scleroderma Fibroblasts; Some aspects of in vitro
Assessment of Collagen Synthesis
Arch Derm. Res. 270, 263-272, 1981
65. Kuvert, E., Bertrams, J.
Transplantationsantigene des Menschen: das HLA-System
Dtsch. med. Wschr. 95, 1843-1847, 1970
66. Lamm, L.K., Jorgensen, F., Kissmeyer-Nielsen, F.
Bf maps between HLA-A and D loci
Tissue Antigens 7, 122-124, 1976
67. Lamm, L.K., Buskjaer, L., Petersen, G.B., Hauge, M.,
Svejgaard, A.
Complement C2 and C4 and Factor B allotypes in insulin-
dependent diabetes (IDD) in Denmark. Abstract
VIII th Histocompatibility Conference, Los Angeles 1980
68. Le Roy, E.C.
Pathogenesis of Scleroderma (Systemic Sclerosis)
The J. of Invest. Dermatol. Vol. 79, 87-89, 1982
69. Lorincz, L.L., Soltani, K., Bernstein, J.E.
Antinuclear Antibodies
International J. of Dermatol. Vol. 20, 401-410, 1981
70. O' Loughlin, S., Tappeiner, G., Jordon, R.E.
Circulating immunocomplexes in systemic sclerosis
and generalized morphaea
Dermatologica 160 (1), 25-30, 1980

71. Luderschmidt, Ch., König, G., Leisner, B., Albert, E.D
Interne Manifestationen und signifikante Korrelation
von HLA-DR 1 und DR 5 bei zirkumskripten Sklerodermien
in Vorbereitung
72. Luderschmidt, Ch., Krieg, T., Müller, P.K.
Neue klinische und experimentelle Ergebnisse zur
Pathogenese der systemischen Sklerodermie
Der Hautarzt 32, Suppl.V, 490-491, 1981
73. Májský, A., Kobiková, M., Stava, Z.
HLA and Scleroderma
Tissue Antigens 14, No.4, 359-360, 1979
74. Mayr, W.
Die Genetik des HLA-Systems. Populations- und Familien-
untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung der
Paternitätsserologie
Humangenetic 12, 195-243, 1971
75. Mehlhaff, E.
HLA- Antigene bei der Sklerodermie
Inaugural Dissertation 1984
76. Meurer, M., Ring, J.
Das Spektrum der antinukleären und antizytoplasmatischen
Antikörper bei Kollagenosen
Der Hautarzt 31, 478-485, 1980
77. Mickey, M.R., Terasaki, P.I., Kreisler, M., Albert, E.D.,
Sengar, D.P.S.
Analysis of histocompatibility data from 1000 kidney
transplants
Tissue Antigens 2, 57-67, 1971
78. Momayezi, M.
HLA und Immunantwort
Rheumaforum 10, 25-32, 1980

79. Nijenhuis, L.E.
Genetic Considerations on Association between HLA and Disease
Humangenetics 38, No.2, 175-182, 1977
80. Niks, M., Rovensky, J., Nyulassy, S., Buc, M., Stefanovic, J., Zitan, D.
Lack of association of HLA-DR antigens with progressive systemic sclerosis (scleroderma)
Tissue Antigens 19, No.3, 238-239, 1982
81. Olaisen, B., Teisberg, P., Gedde-Dahl, T. Jr., Thorsby, E.
The Bf locus in the HLA region on chromosome No. 6:
Linkage and association studies
Humangenetics 30, 291-296, 1975
82. Postlethwaite, A., King, A.
Pathogenesis of progressive systemic sclerosis
Journal of Lab. and Clin. Med. 103, 501-511, 1984
83. Rabin, B.S., Rodnan, G.P., Bassion, S., Gill, T.J.
HL-A antigens in progressive systemic sclerosis (scleroderma)
Arthr. and Rheumat. 18, 381-382, 1975
84. Raum, D., Glass, D., Carpenter, C.B., Alper, C.A., Schur, P.H.
The chromosomal order of genes controlling the major histocompatibility complex, properdin factor B, and deficiency of the second component of complement
J. Clin. Invest. 58, 1240-1248, 1976
85. Reuter, W., Hoffmann, B.
Zur Darstellung der Polymorphismen C3, Tf und Bf in der Dünnschicht-Agarosegel-Elektrophorese
Ärztl. Lab. 23, 178-186, (1977)
86. Rittner, C., Mauff, G.
MHC-Associated Complement Genes in Man and Animals
Behring Inst. Mitt. No. 62, 100-114 (1978)

87. Rittner,C., Rittner,B., Scholz,S., Lorenz,H., Albert,E.D.
Data on a new linkage group: HLA-Bf (Factor of the
properdin system)
Z. Immun. Forsch. (Abstr.)
88. Rittner,C., Bertrams,J.
On the significance of C2, C4 and Factor B polymorphism
in disease
Hum. Genet. 56, 235-247
89. Rittner,C., Grosse-Wilde,H., Albert,E.D.
Localization of the Bf Locus Within the HLA Region
Hum. Genet. 35, 79-82 (1976)
90. Rittner,C., Grosse-Wilde,H., Rittner B., Netzel,B.,
Albert,E.D., Scholz,S.
Linkage Group HL-A-MLC-BF (Properdin Factor B)
Humangenetik 27, 173-183 (1975)
91. Rittner,C., Giles,C.M., Roos,M.H., Demant,P., Mollen-
hauer,E.
Genetics of Human C4 Polymorphism: Detection and
Segregation of Rare and Duplicated Haplotypes
Immunogenetics 19, No.4, 321-334, 1984
92. Rowell, N.R.
Scleroderma
The Practitioner, Vol. 219, 821-825, Dec. 1977
93. Rowell,N.R.
Scleroderma
British J. of Hosp. Med. 13, 581-588, May 1975
94. Sasaki,S., Yoshino,H.
Systemic Scleroderma in Mother and Daughter (letter)
Arch. dermatol. 113, 378-379, März 1977

95. Schinagl, G. & A., Haunstein, U.F., Lobrisch, J.
Immunkomplexe bei der progressiven Sklerodermie
Derm. Mschr. 168, 761-765, 1982
96. Siegel, R.C.
Scleroderma
Med. Clin. of North America 61, 283-297, 1977
97. Scholz, S., Albert, E.D.
HLA and Disease: Involvement of More than One HLA-
Linked Determinant of Disease Susceptibility
Immunol. Rev. Vol. 70, 77-88, 1983
98. Solling, J., Solling, K., Jacobsen, K.U.
Circulating Immune Complexes in Lupus Erythematosus,
Scleroderma and Dermatomyositis
Acta Dermatovenereol. 59, 421-426, 1979
99. Svejgaard, A., Hauge, M., Jersild, C., Platz, P., Ryder, L.P.,
Staub-Nielsen, L., Thomsen, M.
The HLA System; An Introductory Survey
Monographs in Human Genetics Vol. 7, S. Karger Verlag
100. Taj, M., Ahmad, A.
Familial Localized Scleroderma (Morphea)
Arch. dermatol. 113, 1132-1133, Aug. 1977
101. Teisberg, P.
High voltage agarose-gel-electrophoresis in the study
of the C3 polymorphism
Vox. Ang. (Basel) 19, 47-56, 1970
102. Teisberg, P., Olaisen, B., Gedde-Dahl, T. Jr., Thorsby, E.
On the localization of the Gb locus within the MHS region
on chromosome No. 6
Tissue Antigens V, 257-261, 1975

103. Thomsen,M., Morling,N., Platz,P., Ryder,L.P., Svejgaard,A.
HLA and Disease
Transplant. Proc. XI, No.1, 633-637, 1979
104. Weidner,F., Braun-Falco,O.
Gleichzeitiges Vorkommen von Symptomen der zirkum-
skripten und progressiven Sklerodermie
Der Hautarzt 19, 354-360, 1968
105. Wiemers,K., Pönitsch, Haunstein,U.F.
Untersuchungen der arteriellen Strombahn bei progressiver
Sklerodermie mittels angiologischer Methoden
Derm. Mschr. 170, 153-159
106. Winkelmann,R.K.
Pathogenesis and Staging of Scleroderma
Acta Dermatovener 56, 83-92, 1976
107. Verfasser unbekannt
Progressive Systemic Sclerosis
California Medicine 119, 35-42, Aug. 1973
108. Behring Diagnostica
HLA System
Behringwerke AG, Medizinische Information, Jan. 1982

Es bleibt mir nun noch die angenehme Aufgabe, all denen zu danken, die mir bei der Erstellung meiner Dissertation behilflich waren.

Mein ganz besonders herzlicher Dank gilt zuerst Herrn Prof. Dr. med. E. D. Albert, der mir dieses interessante Thema gestellt hat. Trotz starker beruflicher Belastungen hat er sich stets Zeit genommen für die Besprechung meines Manuskriptes, und mir manche Anregung zur Bearbeitung gegeben. Seine freundliche Betreuung war für mich immer eine wohltuende Aufmunterung.

Dank schulde ich auch Herrn Dr. C. Luderschmidt aus der dermatologischen Klinik in München für seine lehrreiche Unterstützung bei dieser Arbeit, sowie seinen freundlichen Einsatz bei der Beschaffung des Testmaterials

Ebenso danke ich allen Mitarbeitern des Referenzlabors für Gewebetypisierung für ihre Hilfe, insbesondere Fräulein A. Andreas, die mir nützliche technische Instruktionen für die Durchführung der Versuche gab.

LEBENS LAUF

Name: Beate Meinhold

Geburtsdatum: 29.09.1959

Geburtsort: Leonberg

Eltern: Anneliese Meinhold , geb. Frey
Manfred Meinhold

Schulbildung: Apr.1966 - Juli 1969: Grundschule
Sept.1969 - Juni 1978:
Thomas Mann Gymnasium München

Reifeprüfung: 29.06.1978

berufliche Tätigkeit: Aug.1978 - Mai 1979: freiwilliges,
soziales Jahr

Studium: Mai 1979 - April 1985:
Studium der Humanmedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Prüfungsabschnitte: März 1981: ärztliche Vorprüfung
März 1982: 1. Abschnitt der
ärztlichen Prüfung
März 1984: 2. Abschnitt der
ärztlichen Prüfung

praktisches Jahr: April 1984 - April 1985 im
Zentralklinikum Augsburg
freies Fach: Kinderheilkunde
April 1985: 3. Abschnitt der
ärztlichen Prüfung

